



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VIVIANNE MACHADO DE ARAÚJO

**ESTUDO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DO ÁCIDO CAFÉICO EM
PROTOCOLOS DE DIABETES E DISLIPIDEMIA EM CAMUNDONGOS**

FORTALEZA

2014

VIVIANNE MACHADO DE ARAÚJO

**ESTUDO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DO ÁCIDO CAFÉICO EM
PROTOCOLOS DE DIABETES E DISLIPIDEMIA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

A692e Araújo, Vivianne Machado de.
Estudo do potencial terapêutico do ácido cafêico em protocolos de diabetes e dislipidemia em camundongos/ Vivianne Machado de Araújo.– 2014.
101 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2014.

Área de concentração: Biologia para a saúde.

Orientação: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

1. Compostos Fenólicos. 2. Diabetes Mellitus. 3. Dislipidemias. I. Título.
CDD 615.1

VIVIANNE MACHADO DE ARAÚJO

**ESTUDO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DO ÁCIDO CAFÉICO EM
PROTOCOLOS DE DIABETES E DISLIPIDEMIA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Aprovada em: 30/04/2014.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais e irmãos, pelo amor e carinho que nutrem por mim e me fortalecem a cada dia para enfrentar a longa caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por iluminar e guiar meu caminho e por ser fonte de fé, sabedoria, fortaleza e inspiração.

Agradeço em especial aos meus pais, Rubens e Julieta, que com carinho, amor incondicional, dignidade e esforço me proporcionaram mais esta conquista.

Aos meus irmãos, Rubens Filho e Marco Antonio, pelo apoio, compreensão, companheirismo e incentivo à minha formação.

Aos meus familiares, que mesmo distante, me incentivaram e me deram força para a realização de mais um objetivo.

Ao meu namorado, Thiago, pela paciência, compreensão, companheirismo e todo carinho que a mim foram dedicados.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz, pela confiança, incentivo, amizade e por sempre perdoar as minhas faltas.

A Professora Flávia Almeida e sua doutoranda Talita Moraes pela colaboração na avaliação da atividade antioxidante do ácido cafeico.

Aos membros da banca, as professoras Nylane Maria Nunes de Alencar e Romélia Pinheiro Gonçalves, por aceitarem meu convite e pelas valiosas contribuições.

A mestranda Aline Parente, que foi minha companheira durante toda a pós-graduação, pelo companheirismo, paciência, amizade e ajuda no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao doutorando Tiago Melo, pela imensa colaboração durante a realização de todos os protocolos envolvidos no projeto.

As amigas que fiz no laboratório, Mariana Brito, Thamires Fontenele e Jamile Magalhães, por todos os bons momentos vividos durante esse percurso, a amizade e as diversas contribuições dadas para a realização deste trabalho.

Aos alunos e amigos de iniciação científica do Laboratório de Bioquímica Clínica, Diego, Richard, Renato, Hector, Giovanna, Kamilla, Renata, Mariana e Lívia meus sinceros agradecimentos, sem vocês a execução desse trabalho teria sido bem mais difícil.

A todos meus amigos, pelo incentivo, apoio e bons momentos proporcionados.

A Capes, pelo apoio financeiro, de extrema importância para a realização deste trabalho.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta conquista.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

O diabetes e as dislipidemias constituem-se em importantes fatores de risco cardiovascular. Quando associados ao estresse oxidativo podem acelerar a doença arterial coronariana e a progressão das lesões ateroscleróticas. Existem vários produtos de origem natural que despontam como potenciais agentes terapêuticos para tratamentos de tais doenças, dentre eles o ácido cafeico, um composto fenólico que apresenta uma variedade de atividades biológicas e farmacológicas descritas na literatura. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial terapêutico do ácido cafeico em protocolos experimentais de diabetes e dislipidemia, bem como analisar sua atividade moduladora sob o estresse oxidativo. A hiperlipidemia foi induzida em camundongos machos através de dois protocolos, sendo mediante uma única administração intraperitoneal de 400mg/Kg de Triton WR-1339 e 400mg/Kg de Poloxamer-407 em todos os animais, exceto no controle normal. Os grupos tratados com ácido cafeico receberam as doses de 25 (AC25), 50 (AC50) e 100 mg/Kg (AC100). O soro desses animais foi analisado em dois intervalos de tempos diferentes para colesterol total, triglicerídeos e glicose. Já o tecido hepático foi analisado após ambos os protocolos de dislipidemia para os produtos de peroxidação lipídica, os grupos sulfidrílicos não-proteicos (NP-SH) e a enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD). A atividade hipoglicêmica do ácido cafeico foi verificada através do protocolo de diabetes induzida por aloxano. O tratamento com as três doses de ácido cafeico e fenofibrato 200mg/Kg reduziram significativamente os níveis de colesterol total e triglicerídeos 24 e 48 horas após a indução da dislipidemia em ambos os protocolos de dislipidemia. Houve também redução da glicose sanguínea em todas as doses utilizadas ao se induzir a dislipidemia com o Poloxamer-407. Além disso, o tratamento com AC promoveu diminuição da peroxidação lipídica e aumento nos níveis de NP-SH nos dois modelos de dislipidemia e, adicionalmente, aumento nos níveis de SOD na hiperlipidemia induzida por Poloxamer-407. Em relação ao protocolo de indução de diabetes com aloxano, verificou-se redução da glicemia e do colesterol total nos três grupos tratados com ácido cafeico. Já os níveis de triglicerídeos foram reduzidos significativamente nos animais dos grupos AC25 e AC100. Os resultados obtidos sugerem que o ácido cafeico possui um efeito benéfico no tratamento das dislipidemias e do diabetes, além de uma importante atividade antioxidante, sem a presença de efeitos adversos durante o estudo. No entanto, são necessários mais estudos de forma crônica que possam garantir a segurança e eficácia de sua utilização.

Palavras-chave: Compostos Fenólicos. Diabetes Mellitus. Dislipidemias.

ABSTRACT

The diabetes and dyslipidemia are important in cardiovascular risk factors. When associated with oxidative stress may accelerate coronary artery disease and progression of atherosclerotic lesions. There are several natural products that stand out as potential therapeutic agents for treatment of such diseases, including caffeic acid, a phenolic compound that has a variety of biological and pharmacological activities described in the literature. Thus, the aim of this study was to evaluate the therapeutic potential of caffeic acid in experimental protocols of diabetes and dyslipidemia, as well as examine their modulating activity under oxidative stress. Hyperlipidemia was induced in male mice using two protocols by means of a single intraperitoneal administration of 400mg/kg Triton WR-1339 and 400mg/kg Poloxamer-407 in all animals, except for the normal control. The treated groups received doses caffeic acid 25 (CA25), 50 (CA50) and 100 mg/kg (CA100). The serum of these animals was analyzed on two different time intervals for total cholesterol, triglycerides and glucose. Liver tissue was analyzed after both protocols dyslipidemia for products of lipid peroxidation, the non-protein sulfhydryl groups (NP-SH) and the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD). The hypoglycemic activity of caffeic acid was checked by the protocol of diabetes induced by alloxan. Treatment with three doses of caffeic acid and 200mg/Kg fenofibrate significantly reduced total cholesterol and triglyceride levels 24 and 48 hours after induction of dyslipidemia in both protocols dslipidemia. There was also reduced blood glucose at all doses used to induce dyslipidemia with Poloxamer -407. Furthermore, the treatment caused a reduction in the CA and an increase in lipid peroxidation levels of NP -SH in two models of dyslipidemia and in addition, increased levels of SOD-induced hyperlipidemia in Poloxamer-407. Regarding the induction protocol with alloxan diabetes, there was reduction in blood glucose and total cholesterol levels in the three groups treated with caffeic acid. Triglyceride levels were significantly reduced in animals in groups CA25 and CA100. The results suggest that caffeic acid has a beneficial effect in the treatment of dyslipidemia and diabetes, as well as an important antioxidant activity without the presence of adverse effects. However, most studies of chronic so they can ensure the safety and efficacy of its use are needed.

Keywords:Phenolic Compounds. Diabetes Mellitus.Dyslipidemias.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura dos flavonoides, ácidos fenólicos e taninos.....	22
Figura 2 –	Mecanismo de doação do hidrogênio fenólico a um radical livre.....	24
Figura 3 –	Estrutura química do ácido cafeico.....	24
Figura 4 –	Síntese dos ácidos hidroxinâmicos.....	25
Figura 5 –	Estrutura química do ácido cafeico fenetil éster.....	27
Figura 6 –	Estrutura química do Gama orizanol.....	27
Figura 7 –	Estrutura das lipoproteínas.....	34
Figura 8 –	Dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio	40
Figura 9 –	Redução do peróxido de hidrogênio a água e oxigênio.....	40
Figura 10 –	Esquema das defesas antioxidantes enzimáticas.....	41
Figura 11 –	Esquema do delineamento experimental do protocolo de indução de dislipidemia pelo Triton WR-1339®	46
Figura 12 –	Esquema do delineamento experimental do protocolo de indução de dislipidemia pelo Poloxamer-407.....	47
Figura 13 –	Esquema do delineamento experimental do protocolo de diabetes induzida pelo aloxano.....	49
Figura 14 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®	51
Figura 15 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 48 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®	52
Figura 16 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipercolesterolemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®	53
Figura 17 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipercolesterolemia 48 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®	54
Figura 18 –	Efeito do ácido cafeico sobre a glicose plasmática 24 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®	55
Figura 19 –	Efeito do ácido cafeico sobre a glicose plasmática 48 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®	56
Figura 20 –	Efeito do ácido cafeico sobre a peroxidação lipídica, determinada pelos níveis de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico-TBARS, após	

	protocolo de dislipidemia induzida pelo triton WR 1339.	57
Figura 21 –	Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-proteicos (NP-SH) após protocolo de dislipidemia induzida pelo triton WR 1339.	58
Figura 22 –	Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de Superóxido dismutase (SOD) após protocolo de dislipidemia induzida pelo triton WR 1339.....	59
Figura 23 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.....	60
Figura 24 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 48 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.....	61
Figura 25 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipercolesterolemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.....	62
Figura 26 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hipercolesterolemia após 48 horas da indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.....	63
Figura 27 –	Efeito do ácido cafeico sobre a glicose plasmática 24 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.....	65
Figura 28 –	Efeito do ácido cafeico sobre a glicose plasmática 48 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.....	66
Figura 29 –	Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-proteicos (NP-SH) após protocolo de dislipidemia induzida pelo Poloxamer-407.....	67
Figura 30 –	Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de Superóxido dismutase (SOD) após protocolo de dislipidemia induzida pelo Poloxamer-407.....	68
Figura 31 –	Efeito do ácido cafeico sobre a hiperglicemia induzida por aloxano após tratamento de 7 dias.....	70
Figura 32 –	Efeito do ácido cafeico sobre a concentração plasmática de colesterol total no modelo de diabetes induzida por aloxano após tratamento de 7 dias.....	71
Figura 33 –	Efeito do ácido cafeico sobre a concentração plasmática de triglicérides no modelo de diabetes induzida por aloxano após tratamento de 7 dias.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Efeito do ácido caféico sobre os níveis de colesterol total e triglicerídeos em camundongos com dislipidemia induzida por triton WR1339®	54
Tabela 2 –	Efeito do ácido caféico sobre os níveis de glicose, AST e ALT em camundongos com dislipidemia induzida por triton WR1339®	56
Tabela 3 –	Efeito do ácido caféico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP—SH), peroxidação lipídica (MDA) e Superóxido dismutase (SOD) em camundongos com dislipidemia induzida por triton WR1339®	59
Tabela 4 –	Efeito do ácido caféico sobre os níveis de colesterol total e triglicerídeos em camundongos com dislipidemia induzida por Poloxamer-407.....	64
Tabela 5 –	Efeito do ácido cafeico sobre a concentração de glicose sanguínea após 24 e 48 horas da indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407.....	66
Tabela 6 –	Efeito do ácido caféico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP—SH) e Superóxido dismutase (SOD) em camundongos com dislipidemia induzida por Poloxamer-407.....	69
Tabela 7 –	Efeito do ácido cafeico sobre as concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total e triglicerídeos no modelo de diabetes induzida por aloxano.....	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação etiológica de diabetes mellitus.....	29
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Ácido cafeico
AC 25	Ácido cafeico 25 mg/Kg
AC 50	Ácido cafeico 50 mg/Kg
AC 100	Ácido cafeico 100 mg/Kg
AG	Ácidos graxos
AGL	Ácidos graxos livres
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AST	Aspartato aminotransferase
CAPE	Ácido caféico fenetil éster
CAT	Catalase
CEPA	Comitê de ética em pesquisa animal
CETP	Proteína de transferência de éster de colesterol
CK	Creatinoquinase
CN	Controle negativo
COX 2	Ciclooxigenase 2
CP	Controle positivo
CT	Colesterol total
c-HDL	Colesterol HDL
c-LDL	Colesterol LDL
DGAT-2	Diacilglicerol aciltransferase-2
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DPP-4	Dipeptidil-peptidase IV
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético sódico
EPM	Erro padrão da media
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
FENO	Fenofibrato
GLI	Glicose

GLP-1	Peptídeo 1 tipo glucagon
GLUT 4	transportador de glicose 4
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa na sua forma reduzida
GSSH	Glutationa na sua forma oxidada
HbA1c	Hemoglobina glicada A1c
HDL	Lipoproteína de alta densidade
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HO ₂ •	Hidroperóxido
HMGCoA redutase	3-hidroxi-3metil-glutaril CoA redutase
IDF	Federação Internacional de Diabetes
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MDA	Malondialdeído
MET	Metformina
MTP	Microsomal Transfer Protein
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NO•	Óxido nítrico
NO ₂ •	Dióxido de nitrogênio
O ₂	Oxigênio
O ₂ •-	Superóxido
OH•	Hidroxila
PCSK9	Proprotein convertase subtilisin kexin type 9
PKA	Proteína quinase A
PKC	Proteína quinase C
Pluronic®-127	Poloxamer-407
PPAR-γ	Receptor ativado do peroxissomo gama
PPARs	Receptores ativados pelo proliferador deperoxissomos
r-LDL	Receptor LDL
SOD	Superóxido dismutase

TBARS	Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicerídeos
Triton WR-1339	Tyloxapol®
Tween 80	Polissorbato 80
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	Biodiversidade Brasileira.....	19
1.2	Compostos fenólicos.....	21
1.3	Ácido Caféico.....	24
1.4	Diabetes Mellitus.....	38
1.5	Dislipidemias.....	33
1.6	Radicais livres e defesa antioxidante.....	38
2	JUSTIFICATIVA.....	42
3	OBJETIVOS.....	43
3.1	Objetivo geral.....	43
3.2	Objetivos específicos.....	43
4	METODOLOGIA.....	44
4.1	Obtenção do ácido cafeico.....	44
4.2	Animais.....	44
4.3	Comitê de Ética.....	44
4.4	Reagentes.....	44
4.4.1	<i>Drogas e reagentes listadas de acordo com seu respectivo fabricante/ marca.....</i>	44
4.4.2	<i>Kits para a determinação quantitativa dos parâmetros bioquímicos.....</i>	45
4.5	Protocolos experimentais.....	45
4.5.1	Modelo de dislipidemia induzida por Triton WR-1339®	45
4.5.2	Modelo de dislipidemia induzida por Poloxamer-407.....	46
4.5.3	Atividade antioxidante do ácido caféico em camundongos após a realização dos modelos de dislipidemia induzida por Triton WR 1339® e Poloxamer-407.....	47
4.5.3.1	<i>Grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH)</i>	47
4.5.3.2	<i>Malondialdeído.....</i>	48
4.5.3.3	<i>Superóxido Dismutase.....</i>	48
4.5.4	Efeito do ácido caféico em camundongos com diabetes induzida por aloxano.....	48

4.6	Obtenção das amostras para determinações bioquímicas.....	50
4.7	Análise Estatística.....	50
5	RESULTADOS	51
5.1	Protocolo de dislipidemia induzida por Triton WR-1339®	51
5.1.1	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de triglicerídeos após indução da dislipidemia pelo Triton WR-1339®</i>	51
5.1.2	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de colesterol total após indução da dislipidemia pelo Triton WR-1339®</i>	52
5.1.3	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de glicose após indução da dislipidemia pelo Triton WR-1339®</i>	55
5.1.4	<i>Avaliação da atividade antioxidante do ácido cafeico após protocolo de dislipidemia induzida pelo Triton WR-1339®</i>	57
5.2	Protocolo de dislipidemia induzida por Poloxamer-407	60
5.2.1	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de triglicerídeos após indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407</i>	60
5.2.2	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de colesterol total após indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407</i>	61
5.2.3	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de glicose após indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407</i>	64
5.2.4	<i>Avaliação da atividade antioxidante do ácido cafeico após protocolo de dislipidemia induzida pelo Poloxamer-407</i>	67
5.3	Protocolo de diabetes induzida por aloxano	69
5.3.1	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de glicose após indução da diabetes pelo aloxano</i>	69
5.3.2	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de colesterol total após indução da diabetes pelo aloxano</i>	70
5.3.3	<i>Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de triglicerídeos após indução da diabetes pelo aloxano</i>	71
6	DISCUSSÃO	73
7	CONCLUSÃO	82
	REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

1.1 Biodiversidade Brasileira

A natureza é considerada uma fonte atrativa de novos compostos com efeitos farmacológicos ativos para o tratamento das mais diversas patologias existentes devido à grande diversidade química encontrada nos milhares de espécies de plantas, animais e microorganismos (POMPILHO; BORGES; MIGUEL, 2013).

Diversas publicações recentes reafirmam a importância dos produtos naturais como fonte de fármacos. Como exemplos clássicos, tem-se a descoberta do taxol, proveniente de *Taxus brevifolia* e *Taxus cuspidata*, um composto com atividade anticancerígena (WANI, 1971); a reserpina, sintetizada por espécies de *Rauwolfia serpentina* e *Rauwolfia vomitoria*, apresentando efeitos anti-hipertensivo e tranquilizante (VAKIL, 1955), e a morfina, obtida a partir da *Papaver somniferum*, que possui atividade analgésica, sendo prescrita em pacientes cujas condições são muito dolorosas, como no câncer (DUKE, 1973; BULDUK; TAKTAK, 2012). Para o manejo terapêutico do diabetes mellitus são usadas insulinas e biguanidas, as quais também possuem fonte de origem natural. Vale ressaltar que desde tempos remotos, os índios utilizavam preparações de extratos de plantas para controlar os sintomas do diabetes, anos antes da descoberta da insulina (TEIXEIRA; FUCHS, 2006).

As fontes naturais ainda estão disponíveis em abundância e oferecem as melhores possibilidades de se encontrar substâncias de interesse terapêutico (COSTA-LOTUFO, 2010). De tal modo que cerca de 80% da população mundial, que vive em países em desenvolvimento, dependem essencialmente de produtos naturais para cuidados primários de saúde, devido principalmente, à pobreza e a falta de acesso à medicina moderna (POMPILHO; BORGES; MIGUEL, 2013).

O Brasil possui a maior biodiversidade genética vegetal, contando com mais de 55 mil espécies catalogadas, sendo que 4 mil espécies vegetais são utilizadas com fins medicinais como resultado da observação e manejo da flora por povos tradicionais desde os primórdios da civilização (ZUCCHI, 2009).

Apesar da intensa investigação da flora terrestre, estima-se que, apenas 6% das aproximadamente 300.000 espécies de plantas superiores, foram investigadas sistematicamente e farmacologicamente, e destas, em apenas cerca de 15% foram realizadas análises fitoquímicas (CRAGG; NEWMAN, 2013).

Devido a esse grande arsenal passível de exploração, grandes indústrias farmacêuticas públicas e privadas tem demonstrado interesse na pesquisa e desenvolvimento de novas moléculas bioativas a partir de produtos de origem vegetal (CALIXTO, 2000). Uma vez que, nos países emergentes, como o Brasil, o uso terapêutico de plantas medicinais e seus manufaturados ajudam a reduzir a importação de drogas e ainda incrementa o desenvolvimento econômico (FERREIRA, 1998).

Dentre os medicamentos modernos, estima-se que, aproximadamente, 25% deles são direta ou indiretamente derivados de plantas superiores. Em alguns casos particulares, tais como medicamentos antitumorais e antimicrobianos, cerca de 60% dos disponíveis no mercado e em fase de teste clínico são derivados de plantas (NEWMAN, 2012).

Para produção de novos fármacos, existe também a possibilidade de promover alterações moleculares na estrutura dos produtos naturais, visando mudanças nas propriedades farmacodinâmicas e/ou farmacocinéticas. Entre essas alterações as mais comuns constituem-se em reações para introdução de grupos vinílicos, fenílicos, benzílicos, introdução de hidroxilas, insaturações em cadeias alquílicas ou cicloalquílicas (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

A biossíntese dessa diversidade de compostos ocorre por meio de rotas metabólicas específicas, em produtos primários ou secundários, que variam em concentração de acordo com as necessidades do organismo. Sendo assim, metabólitos primários são aqueles com funções vitais, incluindo-se nesta classe lipídios, proteínas, ácidos nucléicos, carboidratos; e metabólitos secundários são aqueles necessários à sobrevivência e perpetuação dos organismos no seu ecossistema (POMPILHO; BORGES; MIGUEL, 2013).

Os produtos do metabolismo secundário aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas com este fim, tais como: antibióticos, antifúngicos e antivirais atuantes na proteção das plantas contra patógenos; fitoalexinas, apresentando atividades antigerminativas ou tóxicas a outras plantas (SIMÕES, 2004).

Nesse contexto, encontram-se os compostos fenólicos, uma classe de substâncias amplamente distribuídas no reino vegetal e considerados os mais abundantes metabólitos secundários de plantas, possuindo mais de 8000 estruturas conhecidas atualmente, que variam desde moléculas simples até moléculas com elevado grau de polimerização (DAI; MUMPER, 2010). Derivam de uma via de biossíntese comum, incorporando precursores tanto da via do ácido chiquímico quanto da via do acetato-malonato (VATTEM; LIN; SHETTY, 2005).

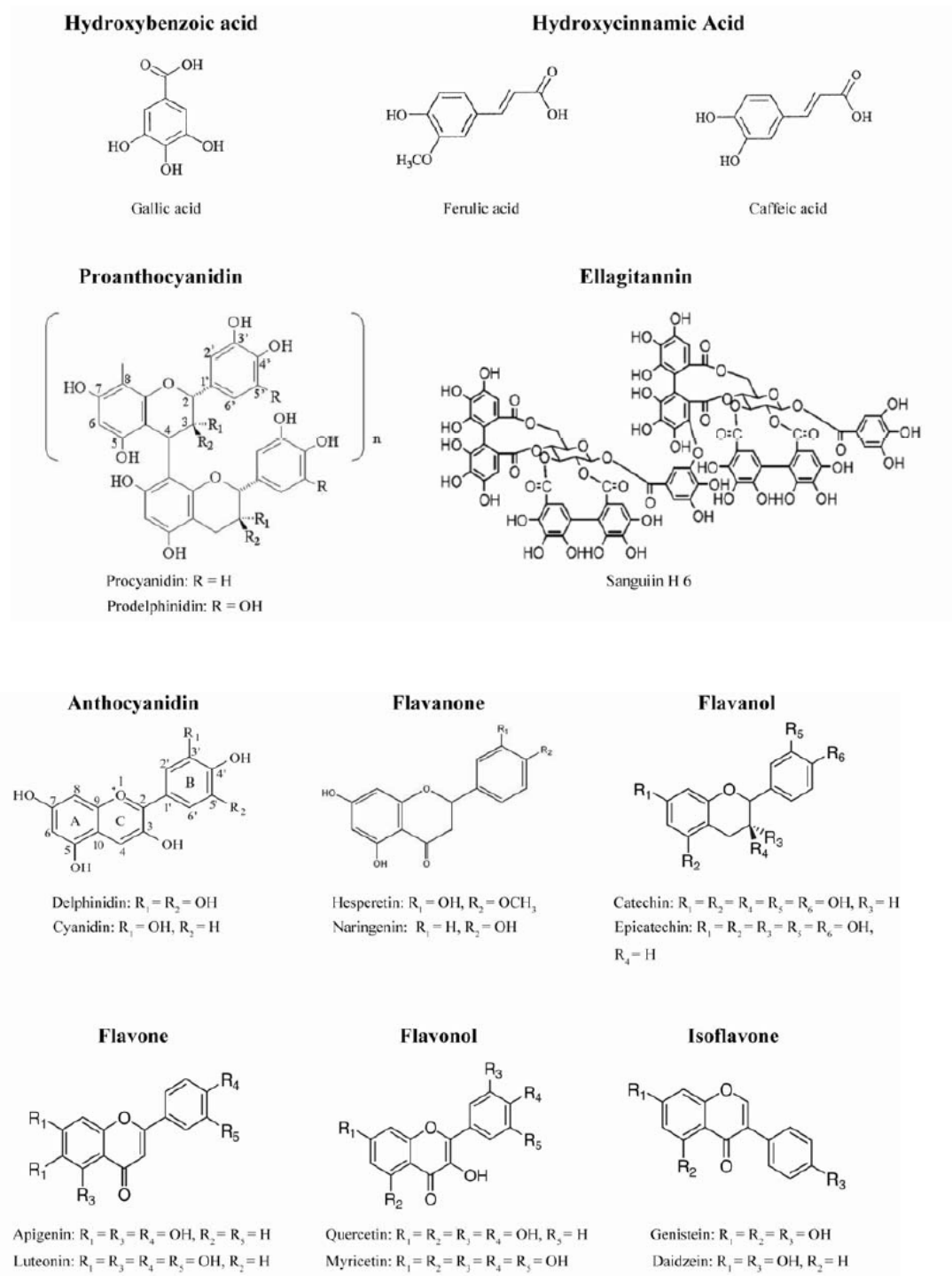
1.2 Compostos fenólicos

São compostos onipresentes em todos os órgãos das plantas e, portanto, constituem-se em parte integrante da dieta humana (DAI; MUMPER, 2010). As principais fontes alimentares são as frutas e bebidas. Frutas como maçã, uva, pêra, cereja, e outras contêm até 200-300 mg polifenóis por 100 g de peso fresco. Normalmente, um copo de vinho tinto ou uma xícara de chá ou café contém cerca de 100 mg de polifenóis. Cereais, chocolate e leguminosas secas também contribuem para a ingestão de polifenóis (SCALBERT, 2005; GAVRILOVA, 2011).

A variedade estrutural dos compostos fenólicos é devido à grande possibilidade de combinações que ocorre na natureza. Eles apresentam em sua estrutura pelo menos um anel aromático contendo grupamentos hidroxilas. Podem ser classificados em ácidos fenólicos, flavonóides, taninos (Figura 1) e menos comum estilbenos e lignanas. Os flavonóides são os polifenóis mais abundantes em nossa dieta. A estrutura básica dos flavonóides é o núcleo contendo 15 átomos de carbono dispostos em três anéis (C6-C3-C6) que são identificados como A, B e C. De acordo com o estado de oxidação do anel central C, os flavonóides são divididos em seis subgrupos: flavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas, isoflavonas, e antocianinas. Sua variação estrutural em cada subgrupo é em parte devido ao grau e padrão de hidroxilação, metoxilação, prenilação, ou glicosilação (D'ARCHIVIO, 2007; DAI; MUMPER, 2010; DEL RIO et al., 2013).

Ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula. São divididos em duas classes: os ácidos hidroxibenzóicos, tais como ácido gálico, os quais possuem sete átomos de carbono (C6-C1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza; e os ácidos hidroxicinâmicos, tais como cumárico, cafeico e ácido ferúlico, os quais possuem nove átomos de carbono (C6-C3). O ácido cafeico (AC) é o ácido fenólico mais abundante, encontrado em muitas frutas e legumes, na maioria das vezes esterificados com ácido quínico, originando o ácido clorogênico, o qual é o principal composto fenólico do café. Outro ácido fenólico comum é ácido ferúlico, o qual está presente em cereais e é esterificado a hemicelulose na parede celular. Taninos correspondem a outro grande grupo de polifenóis presentes em nossa dieta e, normalmente, são subdivididos em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (D'ARCHIVIO et al., 2007; DAI; MUMPER, 2010; FERNANDES et al., 2010).

Figura 1 – Estrutura dos flavonoides, ácidos fenólicos e taninos



Fonte: DAI; MUMPER, 2010.

Recentemente, os compostos fenólicos vêm sendo alvo de vários estudos, tendo em vista que os alimentos que os contêm são ditos funcionais, isto é, possui alguma propriedade

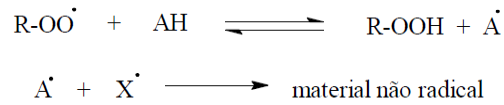
adicional que pode acarretar benefícios a saúde humana, além de sua importância nutricional (MANCINI; MANCINI FILHO, 2005).

A diversidade de efeitos biológicos pode ser explicada tendo em vista duas categorias de mecanismo de ação. O primeiro está associado à relação estrutura-atividade dos compostos fenólicos, devido à presença do anel fenólico e hidroxilas, atuando como antioxidantes efetivos no sequestro de radicais livres e na inibição da oxidação em cascata e, dessa forma, inibindo reações oxidativas desses radicais com moléculas biológicas como lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (VATTEM; LIN; SHETTY, 2005). O segundo e mais significativo mecanismo é em consequência de sua capacidade em modular a fisiologia celular, tanto em níveis moleculares quanto bioquímicos/fisiológicos. Devido similaridade de sua estrutura a inúmeras moléculas biológicas sinalizadoras e efetoras, é que os compostos fenólicos são capazes de participar nos processos de repressão/indução da expressão gênica ou na ativação/desativação de proteínas, enzimas e fatores de transcrição de vias metabólicas (YEH; CHING; YEN; 2009).

De acordo com a literatura, a propriedade antioxidante de tais compostos relaciona-se com seus efeitos benéficos ao proteger células constituintes contra o dano oxidativo e, portanto, limitar o risco de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo (FERNANDES et al., 2009).

Existem diferentes maneiras pelas quais as substâncias fenólicas presentes nos vegetais podem atuar como antioxidantes, dentre elas tem-se: interrupção das reações dos radicais livres pela doação de prótons H^+ , quebra de íons metálicos e sequestro de espécies reativas de oxigênio. O mecanismo predominante é elucidado pela doação do átomo de hidrogênio fenólico ao radical livre, levando a formação de um radical pouco reativo na terminação, Figura 2. A estrutura dos antioxidantes fenólicos influencia diretamente sua atividade, pois a presença de radicais nas posições orto e para do grupamento fenólico aumenta as possibilidades de ressonância da sua forma de radical, conferindo certa estabilidade ao composto formado (GÓMEZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2007; MANCINI; MANCINI FILHO, 2008; KOWALSKI, 2010). Logo, os diferentes ácidos são detentores de distintas atividades antioxidantes (ROBBINS, 2003; CHALAS et al., 2001).

Figura 2 - Mecanismo de doação do hidrogênio fenólico a um radical livre



Onde R é a substância à oxidação, R-OO é o radical peróxido de R, AH é o antioxidante, A é o radical antioxidante, X é outra espécie de radical incluindo a mesma espécie do radical A.

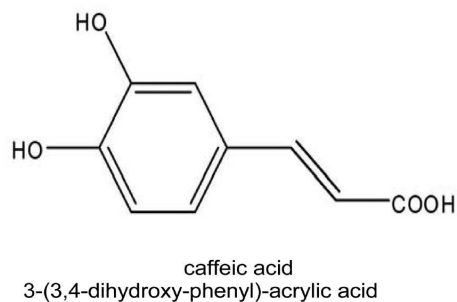
Fonte: KOWALSKI, 2010.

Os compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, além da atividade antioxidante proporcionam inúmeras outras atividades biológicas tais como propriedades anti-carcinogênica, ao modular respostas de genes envolvidos no ciclo celular, anti-inflamatória, suprimindo enzimas pró-inflamatórias COX2 (Cicloxigenase 2) e iNOS (Óxido nítrico sintase induzível) e antibacteriana (FERNANDES et al., 2009; FERRERES et al., 2011).

1.3 Ácido Caféico

A maior classe de ácidos fenólicos está representada pelos ácidos hidroxicinâmicos. O composto mais representativo da classe é o ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) 2-propenóico ou ácido caféico (Figura 3) (TAPIERO et al., 2002).

Figura 3 - Estrutura química do ácido cafeico.

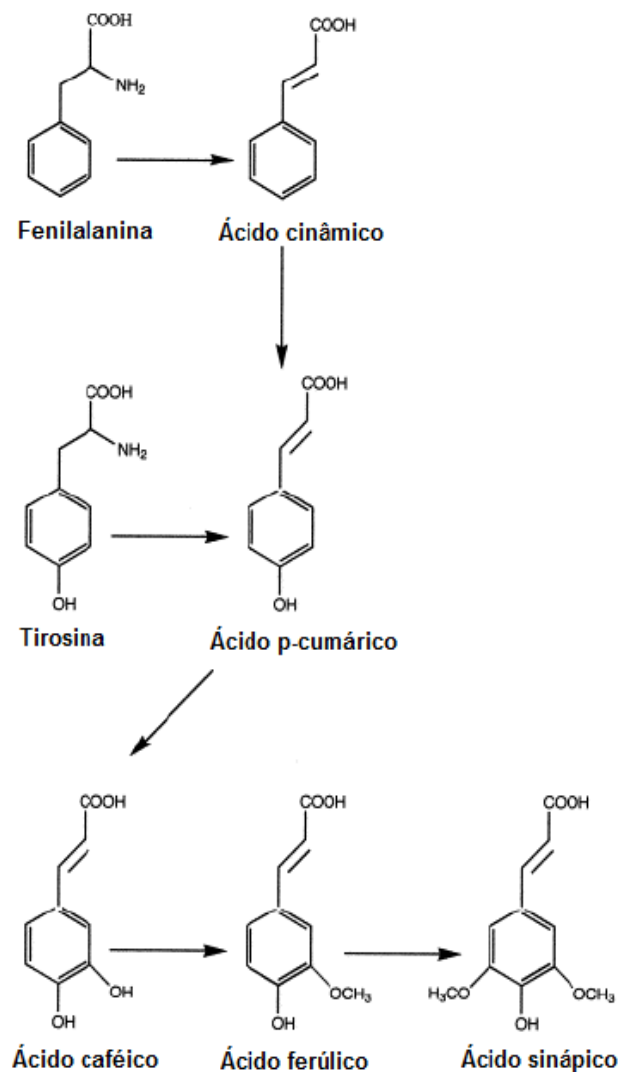


Fonte: LEE et al., 2012.

A ocorrência natural do ácido caféico se dá em muitas frutas e vegetais, como ameixa, maçã, uvas, tomates, além de possuir abundância no café. Podem estar na forma livre ou conjugado a ácidos orgânicos, açúcares, compostos de aminoácidos, lipídios, terpenóides, dentre outros (KIM; IWAI; MATSUE, 2005).

Esse composto é obtido pela via do chiquimato. Tal rota biossintética metaboliza a fenilalanina, que é convertida por uma amônia liase de ácido trans-cinâmico, seguido por hidroxilação na posição 4 do anel aromático formando ácido 4-hidroxicinâmico ou ácido p-cumárico. Após essa fase, ocorre outra hidroxilação na posição 3 do produto formado, com posterior o-metilação, resultando em ácido ferúlico, como pode ser visto na Figura 4 (KIM; IWAI; MATSUE, 2005; DAI; MUMPER, 2010).

Figura 4 – Síntese dos ácidos hidroxinâmicos



Fonte: KIM; IWAI; MATSUE, 2005.

Nos últimos anos, muitas pesquisas científicas foram realizadas com o ácido cafeico e seus derivados, existindo, portanto, várias atividades biológicas descritas na literatura, dentre

elas, atividade imunomoduladora e anti-inflamatória (ZHAO et al., 2008), anticâncer (LEE; ZHU, 2006; FRESCO et al., 2010; HUANG; CAI; ZHANG, 2010), antiviral (TOUAIBIA; JEAN-FRANÇOIS; DOIRON, 2011), antioxidante (KIKUZAKI et al., 2002; HE, LIU et al., 2008; SUN WATERHOUSE; THAKORLAL; ZHOU, 2011), de bloqueio seletivo de leucotrienos, que são componentes envolvidos em doenças imunorreguladoras (REINKE et al., 2002), mecanismo de defesa de plantas (RIAHY et al., 2009) e prevenção da aterosclerose através tanto da inibição à oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) quanto da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) (WEI et al., 2007).

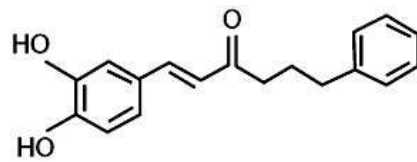
Adicionalmente, foi demonstrado que o ácido caféico é capaz de impedir a formação de compostos mutagênicos como as nitrosaminas (ANDREASEN et al., 2001; NARDINI et al., 2001; TAPIERO et al., 2002), além de inibir as enzimas 5 e 12 lipooxigenases, diminuindo a formação de leucotrienos *in vitro* (KOSHIHARA et al., 1984).

NARDINI et al. (2000) demonstraram que o ácido caféico inibe a proteína quinase C (PKC) e a proteína quinase A (PKA) além de diminuir a ativação do NF- κ B (Fator nuclear kappa B) induzida por ceramidas em células U937. Ademais, o ácido cafeico é conhecido por ter um efeito antidiabético em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina (HSU; CHEN; CHENG, 2000; CHENG et al., 2003, OKUTAN et al., 2005; PARK E MIN, 2006).

A capacidade do ácido caféico em minimizar processos oxidativos tem tido grande ênfase em trabalhos da literatura. Iglesias et al. (2009) estudaram a propriedade antioxidante desse composto e o mecanismo sinérgico com o ácido ascórbico e tocoferol em músculo de peixe. A adição do AC em músculo de peixe retardou tanto a degradação endógena do α -tocoferol como a propagação da oxidação lipídica, medidos através do valor de peróxido e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, com efeitos crescentes com o aumento de 55,5-555,1 μ mol/Kg de ácido caféico.

Entre as possíveis modificações na estrutura do ácido cafeico, a transformação em ésteres ou amidas proporciona novos análogos com várias atividades biológicas interessantes. O ácido cafeico fenetil éster (CAPE) (Figura 5), um dos compostos mais ativos na própolis, constitui-se num exemplo característico de tal fato, já que possui um amplo espectro de ações biológicas relatadas na literatura (LIAO et al., 2003).

Figura 5 - Estrutura química do ácido caféico fenetil éster

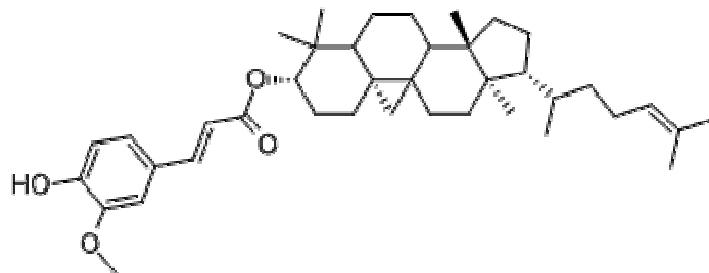


Fonte: LIAO et al., 2003.

O CAPE é um inibidor potente e específico do NF- κ B (NATARAJAN et al., 1996). Além disso, assim como o ácido cafeico, o CAPE possui atividade antioxidante (SUDINA et al., 1993; RUSSO; LONGO; VANELLA, 2002), sendo capaz de inibir a peroxidação lipídica e a atividade de xantina oxidase, além de fazer o sequestro do ânion superóxido e radicais DPPH (RUSSO; LONGO; VANELLA, 2002).

Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa (ARRUDA-FILHO, 2011) demonstraram que ésteres derivados do ácido cinâmico extraídos da cera de carnaúba possuem semelhança estrutural ao Gama-orizanol (Figura 6), cujos efeitos farmacológicos incluem diminuição do colesterol plasmático, redução da biossíntese do colesterol hepático, diminuição da absorção intestinal e aumento da excreção fecal de ácidos biliares. Obtendo-se nas doses utilizadas dos ésteres importantes efeitos hipolipemiante e hipoglicemiante observados nos protocolos estudados com resultados iguais ou, por vezes, superiores aos grupos tratados com Gama-Orizanol ou com as drogas de referência.

Figura 6 - Estrutura química do Gama orizanol



Fonte:ARRUDA-FILHO, 2011.

Apesar dos conhecimentos sobre as vias biossintéticas de hidroxicinamatos e flavonóides em plantas, a função metabólica destes compostos nos seres humanos, após o consumo da dieta, é apenas fragmentário e precisa ser verificada no sentido de entender seus efeitos fisiológicos (KIM; IWAI; MATSUE, 2005).

Desse modo, a investigação do potencial terapêutico do ácido cafeico, principalmente relacionados à redução nos níveis lipídicos e glicêmicos, é necessária na tentativa de descobrir novas drogas ou fitoconstituintes portadores de relevante ação farmacológica.

1.4 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia crônica resultante de defeitos na ação, secreção da insulina, ou em ambos. A patogênese do diabetes pode envolver vários processos. Estes vão desde a destruição autoimune das células β pancreáticas com consequente deficiência de insulina a anomalias que resultam em resistência a ação da insulina. A base da desregulação que ocorre no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas no diabetes é a deficiência na ação da insulina nos tecidos alvos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013).

O DM é um problema de saúde pública que alcança proporções epidêmicas tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento. A Federação Internacional de Diabetes (IDF) estima que existam 381.800 milhões de pessoas com diabetes em 2013, com um aumento projetado de 55% passando para 591,9 milhões em 2035 (GUARIGUATA et al., 2013). Além disso, entre 2010 e 2030 haverá aumento de 20% no número de adultos com diabetes em países desenvolvidos ao passo que em países em desenvolvimento este aumento chegará em 69%. Estas estimativas consideram como fatores determinantes o crescimento e envelhecimento da população e a urbanização associados com mudanças no estilo de vida (SHAW; SICREE; ZIMMET, 2010).

Essa doença pode ser classificada em dois tipos principais, Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) e Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), embora existam outras formas menos comuns de DM. Ambos os tipos estão associados a complicações a curto e longo prazo que afetam a qualidade de vida do indivíduo e muitas vezes geram medo e impotência podendo comprometer o funcionamento físico e psicológico (GURIB-FAKIM, 2006; LI et al., 2011). Uma classificação com mais detalhes pode ser vista no Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação etiológica de diabetes mellitus

<p>I. Diabetes tipo 1</p> <ul style="list-style-type: none"> • destruição das células beta, usualmente levando à deficiência completa de insulina <ul style="list-style-type: none"> A. auto-imune B. idiopático <p>II. Diabetes tipo 2</p> <ul style="list-style-type: none"> • graus variados de diminuição de secreção e resistência à insulina <p>III. Outros tipos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> A. Defeitos genéticos da função da célula β B. Defeitos genéticos da ação da insulina C. Doenças do pâncreas exócrino D. Endocrinopatias E. Indução por drogas ou produtos químicos F. Infecções G. Formas incomuns de diabetes imuno-mediado <p>IV. Diabetes Gestacional</p>

Fonte: Adaptada de SEINO et al., 2010.

O DM 1 pode ser uma doença de caráter autoimune que resulta em destruição das células β pancreáticas, as quais são responsáveis pela secreção de insulina. Tal destruição envolve predisposição genética e também está relacionada a fatores ambientais que ainda estão mal definidos. Apresenta-se usualmente na infância, e é responsável por 5% -10% de todos os casos de diabetes (ASHCROFT; RORSMAN, 2012).

Algumas formas de DM 1 não têm etiologia conhecida, sendo definida como diabetes idiopática. Os pacientes possuem permanente insulinopenia e são propensos a cetoacidose, mas não tem nenhuma evidência de autoimunidade (ASHCROFT; RORSMAN, 2012).

O DM 2 é a forma mais prevalente, responsável por 90% dos casos desta doença. Caracteriza-se principalmente pela presença de distúrbios na secreção de insulina e incapacidade dos tecidos periféricos em responder à insulina (resistência insulínica). Apesar do papel da predisposição genética, outros fatores como o envelhecimento, a obesidade, a qualidade da dieta e o estilo de vida sedentário são os principais fatores de risco envolvidos no seu desenvolvimento (NOLAN; DAMN; PRENTKI, 2011; OLOKOBA; OBATERU; OLOKOBA, 2012).

A diminuição da secreção de insulina e da capacidade das células β em responder às concentrações aumentadas de glicose reduz a sinalização de insulina nos tecidos, diminuindo o influxo de glicose para os adipócitos, células musculares e hepáticas, causando aumento nas concentrações de ácidos graxos livres (AGL) e de glicose na corrente sanguínea agravando a

resistência e a secreção de insulina (SURAMPUDI; JOHN-KALARICKAL; FONSECA, 2009; ESPINOSA et al., 2011).

A maioria dos indivíduos que sofrem de DM 2 são obesos, com adiposidade visceral central. Dessa forma, o tecido adiposo tem um papel crucial no processo inflamatório desenvolvido, uma vez que libera substâncias como adiponectina e citocinas pró-inflamatórias, favorecendo a resistência insulínica. O TNF- α e a IL-6 estimulam a lipólise pelos adipócitos, ocasionando o aumento dos ácidos graxos, que conseqüentemente aumentam a resistência insulínica através dos efeitos negativos diretos na sua via de sinalização (STUMVOLL; GOLDSTEIN; Van HAEFTEN, 2008; SURAMPUDI; JOHN-KALARICKAL; FONSECA 2009; GARCIA-ROVES et al., 2011).

As complicações do diabetes elevam os custos econômicos associados às despesas com assistência médica e redução da capacidade produtiva destes pacientes, sendo uma das principais causas do aumento da mortalidade e morbidade (ENGELGAU et al., 2004). Tais complicações estão associadas à hiperglicemia crônica desencadeando uma cascata de eventos que levam a mudanças estruturais dos tecidos afetados. Em longo prazo, decorrem alterações microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia) e macrovasculares (acidente vascular cerebral, doença cardiovascular e doença vascular periférica) que levam a disfunção, dano ou falência de vários órgãos. O risco de desenvolvimento dessas complicações depende tanto da duração como da severidade da hiperglicemia (FOWLER, 2011; MELENDEZ-RAMIREZ; RICHARDS; CEFALU, 2010).

O diagnóstico do Diabetes mellitus tipo 2 é baseado na história médica, exames clínico e laboratoriais, como o exame de glicemia de jejum (≥ 126 mg/dL), valores casuais de glicose sanguínea (≥ 200 mg/dL) ou teste de tolerância à glicose anormal. Entretanto, para monitorar o controle glicêmico do paciente já diagnosticado como portador de diabetes, o exame de hemoglobina glicada A1c (HbA1c) é validado como a ferramenta de maior confiabilidade, fornecendo um registro de aproximadamente 90 dias da condição glicêmica do paciente, devendo ser inferior a 7% (ADA, 2011).

O tratamento do diabetes interfere no estilo de vida do paciente, uma vez que é complicado, doloroso, depende de autodisciplina, sendo essencial à sobrevida. A abordagem terapêutica envolve vários níveis de atuação, como insulinoterapia, hipoglicemiantes orais, orientação nutricional, autocontrole da glicemia, manutenção da atividade física regular e o apoio psicossocial. Além disso, o controle da hipertensão arterial e da dislipidemia são

medidas básicas para prevenir e/ou retardar o desenvolvimento das complicações relacionadas ao diabetes (SOARES et al.,2010; VIANA et al., 2011).

O objetivo terapêutico principal é o de reduzir a hiperglicemia plasmática. Para isso, a terapia farmacológica atual para DM inclui desde a utilização de insulina ao uso de agentes hipoglicemiantes orais. Dentre os quais se tem as principais classes e características:

- Biguanidas: a metformina é a mais utilizada em pacientes com excesso de peso e obesos, uma vez que suprime a produção de glicose hepática, aumenta a sensibilidade à insulina, aumenta a absorção de glicose, aumenta a oxidação dos ácidos graxos e diminui a absorção de glicose a partir do trato gastrointestinal. Devido à preocupação de desenvolvimento de acidose láctica, a metformina deve ser usada com precaução em pacientes diabéticos idosos com insuficiência renal. Ela tem uma baixa incidência de hipoglicemia em comparação com as sulfoniuréias.

- Sulfoniuréias: São geralmente bem toleradas, mas por estimularem a secreção de insulina endógena, eles carregam um risco de hipoglicemia. Alguns dos fatores de risco para hipoglicemia são insuficiência renal relacionada com a idade, a utilização simultânea de insulina ou sensibilizadores de insulina, idade superior a 60 anos, alta hospitalar recente, abuso de álcool e utilização de vários medicamentos. O uso de sulfoniluréias de longa ação, como a glibenclamida, deve ser evitado em pacientes idosos com DM e uso de glipizida curta ação deve ser preferido (SCHEEN, 2005; CHINIWALA; JABBOUR, 2011).

- Meglitinidas: Repaglinida e nateglinida são secretagógos de insulina que atuam sobre o canal de K ATP-dependente nas células β do pâncreas estimulando a liberação de insulina, semelhante às sulfoniuréias, mas com sítio de ligação diferente. Tem um rápido início e uma curta duração de ação (4-6 horas) e, portanto, menor risco de hipoglicemia. Meglitinidas são dadas antes das refeições para o controle da glicemia pós-prandial. Repaglinida é principalmente metabolizada no fígado com quantidades mínimas excretadas através dos rins e, portanto, o ajuste da dose não é necessário em pacientes com insuficiência renal, exceto aqueles com doença renal em estágio final (BLICKLÉ, 2006; OLOKOBA; OBATERU; OLOKOBA, 2012).

- Tiazolidinedionas: são sensibilizadores da insulina através da estimulação do receptor ativado do peroxissomo gama (PPAR- γ). Eles são os primeiros medicamentos para tratar o problema básico da resistência à insulina em pacientes com DM 2, cuja classe agora inclui principalmente pioglitazona, após o uso restrito da rosiglitazona recomendado pela Food and Drug Administration (FDA) devido ao aumento de eventos cardiovasculares.

Pioglitazona não está associada com a hipoglicemia e pode ser usado em casos de insuficiência renal e, portanto, bem tolerada em adultos mais velhos (YKI-JARVINEN, 2004; YOON et al., 2006; CHINIWALA; JABBOUR, 2011).

- Inibidores de alfa-glicosidase: Acarbose, Voglibose e Miglitol não têm sido amplamente usados para tratar indivíduos com DM2, mas é provável que sejam seguros e eficazes. Estes agentes são mais eficazes para a hiperglicemia pós-prandial e deve ser evitado em pacientes com insuficiência renal significativa. Seu uso é geralmente limitado devido às altas taxas de efeitos colaterais, tais como diarreia e flatulência (CHINIWALA; JABBOUR, 2011).

Terapias baseadas em incretinas:

- Peptídeo 1 tipo glucagon (GLP-1) são a fundamentação das terapias baseadas em incretinas, pois abordam não só o controle da glicemia, mas também por ter como alvo algumas das outras comorbidades que atingem pacientes com DM, como a obesidade. Eles estão disponíveis para utilização em monoterapia, como adjuvante da dieta e exercício físico ou em combinação com hipoglicemiantes orais em adultos com DM2. Exemplos são Exenatida, um mimético da incretina, e Liraglutida. Não existe o risco de hipoglicemia com o uso do GLP- 1, a menos que as terapias estejam combinadas com secretagogos de insulina (STONEHOUSE; DARSOW; MAGGS, 2011).

- Inibidores da dipeptidil-peptidase IV: são uma nova classe de fármacos antidiabetogênicos que proporcionam uma eficácia comparável aos tratamentos atuais. Inibir a dipeptidil-peptidase IV (DPP-4), uma enzima que inativa rapidamente, tanto GLP-1 e GIP, aumentando os níveis desses hormônios ativos e, ao fazê-lo, melhora a função das ilhotas e do controle glicêmico no DM 2. Eles são eficazes como monoterapia em pacientes não controlados com dieta e exercício e, como terapêutica adjuvante em combinação com metformina, tiazolidinedionas e insulina. Os inibidores da DPP-4 são bem tolerados e possuem um baixo risco de produzir hipoglicemia. No entanto, eles são relativamente caros. A durabilidade em longo prazo do efeito no controle glicêmico e morfologia e função das células β ainda não está estabelecida (PRATLEY; SALSALI, 2007; OLOKOBA; OBATERU; OLOKOBA, 2012).

Mesmo com o avanço na terapia moderna, são necessários mais estudos a fim de se pesquisar novos agentes que modifiquem o curso das complicações diabéticas e melhorem a qualidade de vida dos pacientes (GUPTA et al., 2009).

1.5 Dislipidemias

São definidas como uma alteração na quantidade de lipídios circulantes no sangue, que incluem o aumento de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de baixa densidade e diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) (GOWDY; FESSLER, 2012). O acúmulo de quilomícrons e/ou de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) no compartimento plasmático resulta em hipertrigliceridemia e o de lipoproteínas ricas em colesterol, como a LDL, resulta em hipercolesterolemia (SPOSITO et al., 2007).

De acordo com sua etiologia as dislipidemias podem ser classificadas em primárias ou secundárias. As primárias ocorrem em decorrência de fatores genéticos, enquanto que as secundárias podem desenvolver-se a partir de doenças pré-existentes, como a diabetes, após a utilização de determinados medicamentos, assim como devido aos hábitos inadequados, tais como dieta rica em gorduras, tabagismo e alcoolismo (ROCHA, 2009).

Classificam-se também, fenotipicamente, de acordo com o tipo de alteração dos níveis séricos dos lipídeos em hipercolesterolemia isolada, hipertrigliceridemia isolada, hiperlipidemia mista e colesterol HDL (c-HDL) baixo. A hipercolesterolemia isolada é a elevação isolada do colesterol LDL (c-LDL) ($\geq 160\text{mg/dL}$), a hipertrigliceridemia isolada é a elevação isolada dos TG ($\geq 150\text{mg/dL}$), Já a hiperlipidemia mista é quando há valores aumentados de ambos c-LDL ($\geq 160\text{mg/dL}$) e TG ($\geq 150\text{mg/dL}$) e c-HDL baixo é quando há redução do c-HDL (homens $< 40\text{mg/dL}$ e mulheres $< 50\text{mg/dL}$) isolada ou juntamente com o aumento do c-LDL ou do TG (SBC, 2007).

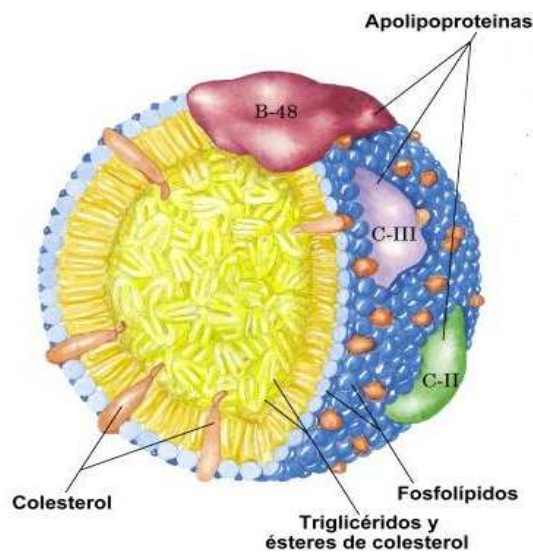
As dislipidemias constituem-se em fatores de risco cardiovascular e estão intimamente associados com a formação da placa de ateroma na parede dos vasos sanguíneos e, conseqüentemente, com o infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral. Estudos demonstraram que a redução dos níveis sanguíneos de c-LDL reduz a chance de eventos cardiovasculares tanto na prevenção primária como na secundária, sendo o c-LDL a primeira meta lipídica para prevenção cardiovascular. A redução dos níveis de triglicerídeos e o aumento dos níveis de c-HDL também colaboram para a inibição do processo aterosclerótico (SBC, 2007; SANTOS et al., 2013).

Embora o colesterol plasmático em excesso seja visto como um vilão para a saúde, a presença equilibrada dessa molécula é vital para o organismo, pois constitui a peça fundamental para a produção de vários hormônios, para síntese de sais biliares, vitamina D, além de fazer parte da estrutura da membrana celular (DA SILVA et al., 2007).

Grande parte do colesterol que o indivíduo necessita é sintetizada pelo próprio organismo, em que cerca de 80% é derivada da síntese endógena que ocorre no fígado, sendo necessário obter apenas uma pequena quantidade pela alimentação (LUPATTELLI et al., 2012).

Por ser uma molécula hidrofóbica, o colesterol é transportado pelo sangue através de lipoproteínas, as quais são associações de lipídios e proteínas. A lipoproteína (Figura 7) possui um núcleo hidrofóbico formado pelo colesterol esterificado e por triacilgliceróis, envolvido por uma monocamada de fosfolípídios (organizados com a parte polar voltada para o meio aquoso e a parte apolar para o interior), de proteínas denominadas apolipoproteínas e pelo colesterol livre, que por ser uma molécula anfipática, encontra-se entre os fosfolípides da monocamada (SIASOS et al., 2009).

Figura 7 - Estrutura das lipoproteínas



Fonte: NELSON; COX, 2006.

As lipoproteínas são classificadas de acordo com sua densidade, e são conhecidas pelas siglas em inglês: HDL (High Density Lypoprotein- lipoproteína de alta densidade), LDL (Low Density Lypoprotein- lipoproteína de baixa densidade), IDL (Intermediate Density Lipoprotein- lipoproteína de densidade intermediária), VLDL (Very Low Density Lypoprotein - muito baixa densidade), e os quilomícrons, molécula que possui menor densidade, comparada com as demais lipoproteínas. São moléculas heterogêneas em tamanho,

formato, composição, função e na contribuição ao desenvolvimento das doenças vasculares(GOWDY; FESSLER, 2012).

A hipercolesterolemia é o fator de maior contribuição na patogenia da aterosclerose e infarto do miocárdio. Globalmente um terço das doenças isquêmicas do coração é atribuível a níveis plasmáticos elevados de colesterol. Estima-se que o aumento deste lipídeo causa 2,6 milhões de mortes por ano, ou seja, 4,5% do total. Em 2008, a prevalência mundial entre os adultos foi de 39%. Nesse mesmo ano, no Brasil, a prevalência estimada de colesterol elevado foi de 42,8% (WHO, 2011; FARZADFAR et al., 2011).

O aumento do colesterol de 200 para 240 mg/dL eleva em 3 vezes o risco de morte por um evento cardíaco. Por isso, valores de colesterol total acima de 200 mg/dL têm sido repetidamente correlacionado ao desenvolvimento de doenças vasculares periféricas, contribuindo com a prevalência e severidade da aterosclerose, infarto e outras doenças coronarianas (SANGWAN et al., 2013).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, devida a diversos fatores de risco como dislipidemia, hipertensão arterial ou tabagismo, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre. Ela é considerada uma doença degenerativa e de progressão lenta, apresentando sintomas decorrentes de interferências mecânicas no fluxo sanguíneo (CARDOSO et al.,2011; BANDEALI; FARMER, 2012). Trabalhos apontam que, aproximadamente, 75% dos eventos coronarianos são causados pela ruptura da placa aterosclerótica e conseqüente formação de trombos (JIANG et al., 2011).

A formação da placa aterosclerótica na parede do vaso inicia-se com a agressão ao endotélio vascular por diversos fatores, como a elevação dos níveis plasmáticos de colesterol ligados a lipoproteínas de baixa densidade, diabetes, hipertensão, tabagismo, obesidade, alterações no fenótipo de células vasculares, além de áreas de necrose e fibrose no tecido circundante (GALKINA; LEY, 2009).

A resposta inflamatória crônica a diferentes mecanismos lesivos à parede vascular sofre a ação de inúmeros fatores de crescimento como citocinas, substâncias produzidas pelas células endoteliais, células musculares lisas, macrófagos e linfócitos T, que liberam substâncias tóxicas causando lesão no endotélio celular, hipertrofia e hiperplasia da musculatura lisa vascular. Esse processo desencadeia também a ativação e agregação de plaquetas, pois prejudica a produção/disponibilidade do óxido nítrico, acarretando redução da luz do vaso e gerando isquemia de tecidos e órgãos. Com a progressão desse processo

inflamatório, a doença se consolida e evolui até estágios mais avançados da aterosclerose.(GONÇALVES et al., 2000; RAY et al., 2009; BADIMON; VILAHUR, 2012).

Associados a esses eventos inflamatórios, sabe-se que a modificação oxidativa do LDL está diretamente envolvida na inicialização do processo aterosclerótico e sua progressão está intimamente associado ao aumento da produção endotelial de espécies reativas do oxigênio (ROS). Estudos clínicos tem documentado uma forte relação entre os níveis de lipoproteínas aterogênicas e as ROS em pacientes com doenças cardiovasculares, assim como a associação a marcadores inflamatórios como o fibrinogênio e o PCR (RIZZO et al., 2009).

Desse modo, o tratamento das dislipidemias visa fundamentalmente à prevenção das doenças ateroscleróticas, por meio da redução do perfil lipídico de risco cardiovascular. Este perfil irá condicionar o nível de intervenção do tratamento, que pode ser não farmacológico ou farmacológico (MARQUES, 2010).

O tratamento não farmacológico baseia-se em modificações do estilo de vida, através da adoção de hábitos alimentares saudáveis, associados com a prática de exercícios físicos (BALLARD et al., 2013). Já a terapia farmacológica envolve a utilização de fármacos hipolipemiantes, capazes de isoladamente ou em associação produzir adequação do perfil lipídico (ABADI; BUDEL, 2011).

A farmacoterapêutica para os quadros de dislipidemia baseia-se no uso regular de classes de fármacos hipolipemiantes como:

- Estatinas: são inibidores da 3-hidroxi-3metil-glutaril CoA redutase A (HMGCoA redutase) que levam a redução do colesterol. Permanece sendo a terapia mais validada por estudos clínicos para reduzir a incidência de eventos cardiovasculares. A depleção intracelular de colesterol estimula a liberação de fatores transcripcionais e, conseqüentemente, a síntese e a expressão na membrana celular de receptores para captação do colesterol circulante, como o LDL-R. Assim, a ação das estatinas pode potencialmente influenciar todo o conjunto das lipoproteínas circulantes que interagem com o r-LDL (receptor LDL), como a LDL, a VLDL e remanescentes de quilomícrons. As estatinas reduzem os TG também mediante o aumento da expressão de r-LDL e, conseqüentemente, pela remoção de lipoproteínas ricas em triglicérides do plasma. Entre os efeitos colaterais, a miopatia é o mais comum e possui um amplo espectro clínico, variando desde mialgia com ou sem elevação da creatinoquinase (CK) até a rabdomiólise (THOMPSON; CLARKSON; ROSENSON, 2006; XAVIER et al., 2013).

- Fibratos: as ações dos fibratos no metabolismo lipídico decorrem de sua capacidade de imitar a estrutura e as funções biológicas dos ácidos graxos livres, ligando-se a fatores de

transcrição específicos, os receptores nucleares de proliferação dos peroxissomos (PPARs) expressos primariamente em fígado, rins, coração e músculo. A ativação dos PPARs pelo fibrato ativam uma série de genes relacionados com hidrólise dos TG (lipase lipoproteica e apolipoproteína CIII), degradação e síntese de AG e HDL. Efeitos colaterais são bastante raros, no entanto existem interações clinicamente relevantes de fibratos com estatinas, particularmente entre gemfibrozila e sinvastatina. O uso deve ser cuidadoso em pacientes renais crônicos (JUN et al., 2010; GINSBERG et al., 2010).

- Resinas sequestrantes de ácidos biliares: são grandes polímeros que ligam os ácidos biliares carregados negativamente e sais biliares no intestino delgado, reduzindo a absorção enteral de colesterol. Como resultado ocorre depleção do colesterol celular hepático, estimulando a síntese de r-LDL e colesterol endógeno. Como consequência desse estímulo à síntese pode ocorrer aumento da produção de VLDL e, conseqüentemente, dos TG plasmáticos. A adição de colestiramina ao tratamento com estatinas é recomendada quando a meta de c-LDL não é obtida apesar do uso de estatinas potentes em doses efetivas. Os principais efeitos colaterais das resinas são constipação (até 25%) e aumento dos TG em indivíduos com hipertrigliceridemia acentuada (> 400 mg/dl) (XAVIER et al., 2013).

- Inibidores seletivos da absorção de colesterol: A ezetimiba inibe a absorção de colesterol na borda em escova do intestino delgado, atuando seletivamente nos receptores Niemann-Pick C1-like protein 1 e inibindo o transporte de colesterol. A inibição da absorção de colesterol, em grande parte do colesterol biliar, leva à diminuição dos níveis de colesterol hepático e ao estímulo à síntese de r-LDL, com conseqüente redução do nível plasmático de c-LDL de 10% a 25%. Efeitos colaterais são raros, relacionados com alteração do trânsito intestinal (BAIGENT et al., 2011; PARK et al., 2011).

- Niacina: atua no tecido adiposo periférico, leucócitos e células de Langerhans por meio de sua ligação com um receptor específico ligado à proteína G, o GPR109A. A ativação da GPR109A inibe as lipases hormônios sensitivas nos adipócitos e, por esse meio, diminui a liberação de AGL na circulação. Em paralelo, a niacina inibe a atividade da enzima diacilglicerol aciltransferase-2 (DGAT-2) nos microsossomos dos hepatócitos e, assim, a síntese hepática de TG. Resulta destas ações uma menor disponibilidade de TG intra-hepático e, por conseqüência, o aumento no catabolismo de apolipoproteína B (apo B) e menor secreção de VLDL e LDL. Indiretamente, ocorrem redução da lipoproteína (-26%) e aumento do c-HDL (até 30%) (BODEN et al., 2012).

Como exemplo de novos fármacos utilizados no tratamento das dislipidemias têm-se os inibidores da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), Inibidor da Microsomal Transfer Protein (MTP), Inibidores do Protein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) e Inibidores da síntese de apo B. Os quais ainda vêm sendo testados para garantir a segurança, eficácia e os benefícios clínicos para os pacientes (XAVIER et al., 2013).

Há relatos de que mais de metade dos pacientes com dislipidemia não conseguem atingir as metas recomendadas apesar de serem tratados com estatinas e outros tipos de drogas hipolipemiantes. Isto pode ser devido à eficácia limitada dos medicamentos atualmente disponíveis e a presença de eventos adversos da terapia intensiva com tais medicamentos (SAHEBKAR, 2014). Devido a estas limitações, tem havido um aumento no interesse em encontrar agentes seguros de origem natural a serem utilizados como adjuvantes na terapia hipolipidêmica.

1.6 Radicais livres e defesa antioxidante

Atualmente, tem-se demonstrado grande interesse em relação a diversas substâncias bioativas, particularmente aos antioxidantes naturais, devido aos efeitos desses compostos sobre os radicais livres e consequentes benefícios que proporcionam ao organismo (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT; 2009).

Os radicais livres são moléculas orgânicas e inorgânicas, produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica, que possuem átomos com um ou mais elétrons não pareados, tornando-os moléculas altamente instáveis, com curta meia-vida e muito reativa quimicamente (REIS et al., 2011).

Encontram-se envolvidos em vários processos, como na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. No entanto, o excesso de radicais livres leva a importantes alterações em nível molecular que estão associadas a danos às macromoléculas biológicas como lipídios, proteínas e DNA, gerando alterações teciduais que estão envolvidas em inúmeros processos patológicos, como câncer, aterosclerose, doenças neurodegenerativas, diabetes, cirrose, artrite reumatóide etc. (HALLIWELL; GUTTERIDGE 2000; MARIOD et al., 2009).

Os radicais livres, em sua maioria, derivam do oxigênio, sendo os principais observados o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), a hidroxila (OH^{\bullet}), o hidroperóxido (HO_2^{\bullet}), o óxido nítrico (NO^{\bullet}) e o dióxido de nitrogênio (NO_2^{\bullet}). Dentre estes, o radical hidroxila é o mais reativo na

indução de lesões nas moléculas celulares (REIS et al., 2011; ANDERSON, 2000; ABDALLA, 2006).

Quando a geração de radicais livres excede a capacidade antioxidante de defesa do corpo, ocorre um desbalanço no sistema redox celular, promovendo o estresse oxidativo. Este, por sua vez, proporciona ao organismo a instalação de doenças infecciosas e degenerativas bem como uma maior fragilidade em anular ou minimizar a ação das toxinas (SPADA et al., 2008).

A ação das espécies reativas de oxigênio podem atingir todos os componentes celulares, porém a membrana é um dos mais afetados em decorrência da peroxidação lipídica, que consiste numa reação em cadeia entre os radicais e os resíduos de ácidos graxos insaturados (grupo acila) dos lipídios de membrana, acarretando alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares, alterações no metabolismo celular, perda de seletividade no transporte por membranas, liberação do conteúdo de organelas, além da formação de produtos citotóxicos, induzindo dano e morte celular (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). O malondialdeído (MDA) é um dos produtos da peroxidação lipídica que é extremamente reativo e pode reagir de forma eventual com o grupo amino das proteínas, fosfolipídeos ou ácidos nucleicos, provocando alterações estruturais nos constituintes celulares (MCBRIDE et al., 1988).

Estudos recentes têm apontado o estresse oxidativo como um importante fator etiológico que liga hipercolesterolemia com aterogênese. Uma dieta rica em colesterol traz modificações notáveis nos mecanismos de defesa antioxidante e promove a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade pelas EROs, constituindo a base da formação da placa de aterosclerose. A hipercolesterolemia diminui também o sistema de defesa antioxidante e as atividades de superóxido dismutase e catalase (WITZUN, 2001; DAHECHA et al., 2013).

Para combater o excesso de radicais livres o organismo possui diferentes mecanismos de defesa antioxidante. Os quais podem ser classificados em enzimáticos formados pela superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), catalase (CAT), entre outras e não enzimáticos, endógenos ou provenientes da dieta (b-caroteno, selênio, a-tocoferol, vitamina C, compostos fenólicos etc.) (YU, 1994; AUGUSTO, 2006; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

O sistema antioxidante enzimático constitui a primeira defesa endógena a agir aos ataques das espécies reativas de oxigênio, impedindo sua formação ou seqüestrando-as de

forma a impedir sua interação com alvos celulares (ROVER JÚNIOR; HOEHR; KUBOTA,2001).

A SOD corresponde a uma família de enzimas que possui em sua composição diferentes grupos prostéticos. Dentro da célula, esta enzima tem papel fundamental na defesa do organismo contra o ataque das EROs, sendo a primeira linha de defesa, pois atua através da dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio (O₂) (Figura 8) (WINTERBOURN;KETTLE, 2003).

Figura 8 - Dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio



Fonte: WINTERBOURN; KETTLE, 2003.

O peróxido de hidrogênio produzido é facilmente difundido, mas tóxico para as células, sendo então degradado por outras enzimas antioxidantes (LYUBENOVA et al., 2009).

A enzima catalase contém um grupamento heme e está localizada nos peroxissomos do fígado e rins e em microperoxissomos de outras células. Tal enzima catalisa a redução do H₂O₂ a água (H₂O) O₂(figura9) (ROJKIND et al., 2002). Tem afinidade apenas por moléculas de baixo peso molecular, tais como o H₂O₂, não metabolizando moléculas grandes como os peróxidos lipídicos, produtos da peroxidação lipídica (HALLIWELL; GUTTERIDGE,2007).

Figura 9 - Redução do peróxido de hidrogênio a água e oxigênio



Fonte: ROJKIND et al., 2002.

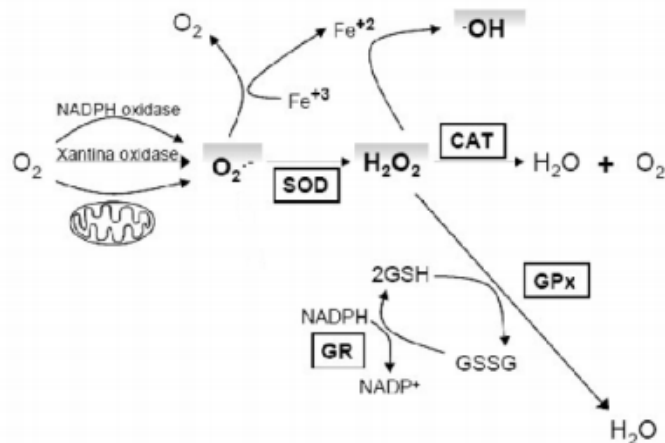
A catalase liga-se ao NADPH (Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina), o qual protege a enzima da inativação e aumenta sua eficiência (KIRKMAN; GAETANI, 1984; KIRKMAN et al., 1999).

O ciclo redutor da glutatona é o principal redutor de lipoperóxidos e hidroperóxidos. A Glutaciona peroxidase, uma enzima antioxidante dependente de selênio, está presente no citosol e na mitocôndria e tem um papel importante na decomposição do peróxido de hidrogênio e dos hidroperóxidos orgânicos utilizando o tripeptídeo glutaciona na sua forma reduzida (GSH) como substrato para as reações resultando na forma oxidada da glutaciona (GSSH). Uma vez oxidada, a GSSH é convertida em GSH pela GR (BETTERIDGE, 2000; HERMES-LIMA, 2004).

Assim, a GPx desempenha um papel importante na inibição da peroxidação lipídica e na prevenção de danos no DNA e no RNA (MARTINS, 2007).

No entanto, estes mecanismos de defesa (Figura 10) contra as EROs no organismo humano podem ser insuficientes e os danos cada vez mais prejudiciais ao organismo. Daí o interesse em relação a diversas substâncias bioativas, particularmente aos antioxidantes naturais, devido aos efeitos desses compostos sobre os radicais livres e consequentes benefícios que proporcionam ao organismo (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT; 2009).

Figura10 – Esquema das defesas antioxidantes enzimáticas



Fonte: ROVER JÚNIOR; HOEHR; KUBOTA, 2001.

2 JUSTIFICATIVA

O ácido caféico, um composto pertencente à classe dos ácidos fenólicos, possui ampla distribuição no reino vegetal e está presente em quantidades consideráveis em frutas, legumes e bebidas da dieta humana. Na sua estrutura química, apresenta um anel fenólico e hidroxilas, tornando-o similar estruturalmente a moléculas biológicas sinalizadoras e efetoras que são capazes de modular a fisiologia celular.

Já foram demonstradas importantes atividades biológicas desse composto e seus derivados, como efeitos hipoglicemiantes, antioxidante, antiinflamatório e possíveis ações hipolipidêmicas.

Tais efeitos tornam-se relevantes na pesquisa científica, uma vez que as patologias que atingem grande parcela da população e são responsáveis por um elevado número de mortes prematuras em todo o mundo, como as doenças cardiovasculares, estão relacionadas a desordens no metabolismo lipídico, como as dislipidemias, o diabetes e associadas ao estresse oxidativo, podendo acelerar a doença arterial coronariana, bem como a progressão de lesões ateroscleróticas.

Além da elevada prevalência dessas patologias, verifica-se a dificuldade na terapia de tais doenças, devido à presença de efeitos adversos e da cronicidade no tratamento que levam ao abandono da terapia pelos pacientes.

Desse modo, torna-se essencial a pesquisa de novos agentes redutores de lipídeos e fármacos hipoglicemiantes oriundos de fontes naturais, uma vez que são bem aceitos por grande parte da população, além de, muitas vezes, ser menos dispendioso para o Sistema Único de Saúde.

Assim, o ácido cafeico possui grande potencial terapêutico que necessita ser estudado em modelos experimentais específicos de dislipidemia e diabetes para garantir sua eficácia e segurança.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial terapêutico do ácido caféico no tratamento do diabetes e das dislipidemias induzidas em camundongos, bem como analisar sua atividade moduladora sob o estresse oxidativo.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a ação hipoglicêmica do ácido cafeico através de protocolo de diabetes induzida por aloxano em camundongos;
- Verificar a atividade hipolipidêmica do ácido cafeico em camundongos com dislipidemia induzida por Triton WR-1339[®] e Poloxamer P-407;
- Analisar a atividade antioxidante através das dosagens de enzimas antioxidantes e oxidantes do ácido cafeico na resposta ao estresse oxidativo nos protocolos de dislipidemia induzidas por Triton WR-1339[®] e Poloxamer P-407

4METODOLOGIA

4.1 Obtenção do Ácido Caféico

O ácido caféico (Pureza > 98%) foi adquirido comercialmente através da empresa Sigma-Aldrich®.

4.2 Animais

Foram utilizados camundongos, albinos, Swiss, machos, pesando entre 20-35g, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. Estes animais foram acondicionados em gaiolas apropriadas e mantidos sob temperatura de 22 ± 2 °C, em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, recebendo ração padrão e água *ad libitum*. Antes do início dos protocolos os animais foram aclimatizados no laboratório por um período de sete dias.

4.3 Comitê de Ética

Todos os protocolos experimentais realizados nesse estudo atenderam aos preceitos éticos nacionais e internacionais referentes à pesquisa com animais. De acordo com as normas exigidas, o referido projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará com número de protocolo 61/2013.

4.4 Reagentes

4.4.1 Drogas e reagentes listadas de acordo com seu respectivo fabricante/ marca.

- Etanol p.a. - Vetec®
- Gemfibrozil - EMS®
- Heparina Sódica - Cristália®
- Polissorbato 80 (Tween 80) - Sigma-Aldrich®
- Poloxamer 407 (Pluronic® -127) - BASF®
- Triton WR-1339 (tyloxapol®) - Sigma Aldrisch®

4.4.2 Kits para a determinação quantitativa dos parâmetros bioquímicos

- Glicose (GLI) Enzimática (Labtest[®])
- ALT (Alanina Aminotransferase) Cinético (Labtest[®])
- AST (Aspartato Aminotransferase) Cinético (Labtest[®])
- Colesterol Total (CT) Enzimático (Labtest[®])
- Triglicerídios (TG) Enzimático (Labtest[®])

4.5 Protocolos experimentais

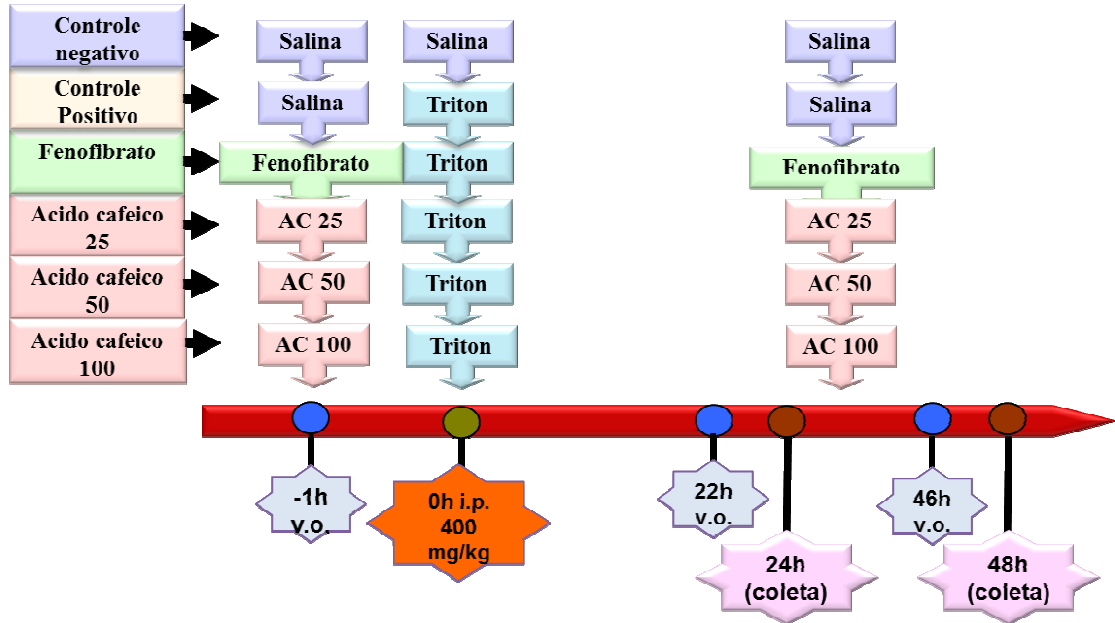
4.5.1 Modelo de dislipidemia induzida por Triton WR-1339[®]

Os camundongos foram divididos nos seguintes grupos experimentais (n=8): CN, CP, fenofibrato 200mg/kg (FENO), ácido caféico 25mg/Kg, ácido caféico 50mg/Kg e ácido caféico 100mg/Kg.

A dislipidemia foi induzida em todos os grupos por uma única administração intraperitoneal (i.p.) de triton WR-1339 na dose de 400mg/kg (HALL *et al.*, 2000), exceto no grupo controle negativo. Os grupos controle negativo e positivo foram tratados com salina, o grupo FENO recebeu fenofibrato 200mg/Kg e nos grupos AC25, AC50 e AC100 administrou-se ácido caféico nas doses de 25, 50 e 100mg/Kg, respectivamente. Os animais foram tratados, por via oral, pela técnica de gavagem, sendo esses tratamentos realizados 1h antes, 22h e 46h após a administração intraperitoneal de triton.

Após as 24h e 48h da indução da dislipidemia, os animais com jejum alimentar prévio de 6-8h, foram submetidos a uma coleta de sangue para a determinação dos parâmetros bioquímicos colesterol total, triglicerídeos e glicose (Figura 11).

Figura 11 - Esquema do delineamento experimental do protocolo de indução de dislipidemia pelo Triton WR-1339®



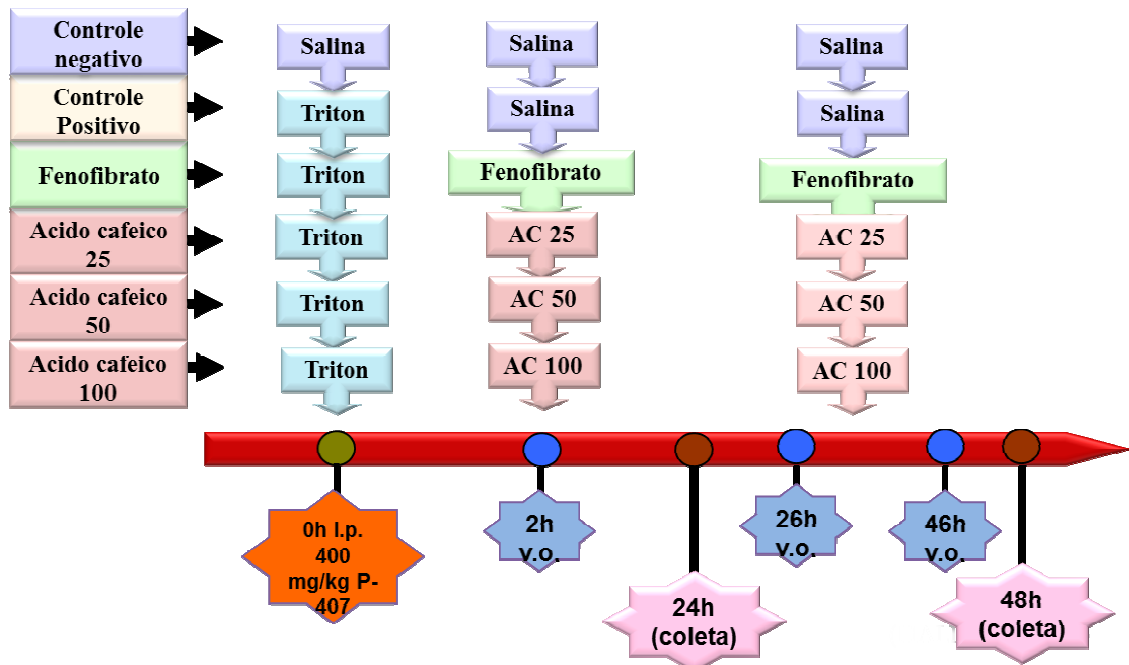
Fonte: HALL et al., 2000.

4.5.2 Modelo de dislipidemia induzida por Poloxamer-407

Camundongos machos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos experimentais (n=8): controle negativo, controle positivo, fenofibrato 200mg/kg, ácido caféico 25mg/Kg, ácido caféico 50mg/Kg e ácido caféico 100mg/Kg.

Neste protocolo (Figura 12), a hiperlipidemia foi induzida em todos os grupos mediante única injeção intraperitoneal (i.p.) de poloxamer-407® (KIM et al., 2008) na dose de 400 mg/kg, exceto no grupo controle negativo. Os grupos controle negativo e positivo (salina, v.o.), FENO, AC25, AC50 e AC100 foram tratados três vezes, sendo 2h, 26h, 46h após a administração intraperitoneal de poloxamer-407®. Após 24h e 48h da administração i.p. de P-407, os animais foram submetidos à coleta de sangue pelo plexo orbital mediante jejum de sólidos prévio de 6 horas de acordo com o procedimento descrito anteriormente para determinação plasmática dos parâmetros bioquímicos triglicerídeos, colesterol total e glicose através da utilização de kits colorimétricos específicos.

Figura 12 - Esquema do delineamento experimental do protocolo de indução de dislipidemia pelo Poloxamer-407



Fonte: KIM et al., 2008.

4.5.3 Atividade antioxidante do ácido caféico em camundongos após a realização dos modelos de dislipidemia induzida por Triton WR 1339[®] e Poloxamer-407

Após a coleta de sangue em ambos os protocolos de dislipidemia, os animais foram sacrificados e o fígado coletado para avaliar o efeito do ácido caféico em marcadores hepáticos de estresse oxidativo.

4.5.3.1 Grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH)

Para preparação do homogenato a 10%, o tecido hepático foi homogeneizado com EDTA 0,02M gelado. Em seguida, adicionou-se uma alíquota de 4 mL do homogenato, 3,2 mL de água destilada e 0,8 mL de ácido tricloroacético 50% para posterior centrifugação das amostras a 3500 rpm durante 15 min. Retirou-se um volume de 2 mL do sobrenadante e adicionou-se 4 mL de tampão Tris 0,4M, pH 8,9 e 100 µL de DTNB 0,01M. A absorbância foi medida dentro de 5 min a 412nm. Os dados foram calculados a partir de uma curva padrão de glutatona reduzida e expressos em µg/g de tecido.

4.5.3.2 Malondialdeído

A peroxidação lipídica do fígado dos camundongos foi determinada por estimação do malondialdeído usando o teste do ácido tiobarbitúrico (TBARS) (AGAR et al., 1999).

O tecido hepático foi homogeneizado em tampão KCL 10% (pH 7,4) para preparação do homogenato a 10%. 250µL do homogenato foi incubado em banho maria a 37°C por 60 min. Após a incubação, adicionou-se 400µL de ácido perclórico 35% e as amostras foram centrifugadas a 1400 rpm por 10 min. Retirou-se 600 µL do sobrenadante e adicionou-se 200 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%. A mistura foi levada a banho maria a 95-100°C durante 30 min. Em seguida, a solução foi deixada em temperatura ambiente.

A leitura da absorbância foi medida em 532nm. Obteve-se a curva padrão usando o 1,1,3,3-tetrametoxipropano. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/g de tecido.

4.5.3.3 Superóxido dismutase

Para obtenção de um homogenato a 10%, o tecido hepático foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 50mM (pH 7,8) e centrifugado a 3600rpm por 10 min a 4°C. Retirou-se o sobrenadante e centrifugou-o novamente a 12000rpm durante 20 min a 4°C. Numa câmara escura foram misturados 1 mL do meio reacional (tampão fosfato de potássio 50mM, 100nM EDTA e L-metionina 13mM pH 7,8), 10 µL da amostra (sobrenadante), 150 µL do NBT 750 µM e 300µL de riboflavina 2 µM e homogeneizou-se as amostras. Depois, adicionou-se 150 µL de NBT (750 µM). Os tubos contendo a solução obtida foram expostos à lâmpada fluorescente (15W) durante 15 minutos. Imediatamente depois, foi realizada a leitura no espectrofotômetro em comprimento de onda de 560 nm. Os resultados foram expressos em unidades da enzima, que é a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50% (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

4.5.4 Efeito do ácido caféico em camundongos com diabetes induzida por aloxano.

O aloxano foi utilizado neste protocolo (Figura 13) por ser um composto citotóxico descrito na literatura para indução de diabetes em animais. Sua ação diabetogênica ocorre pela inibição da secreção de insulina devido à destruição seletiva das células β pancreáticas (SZKUDELSKI, 2001).

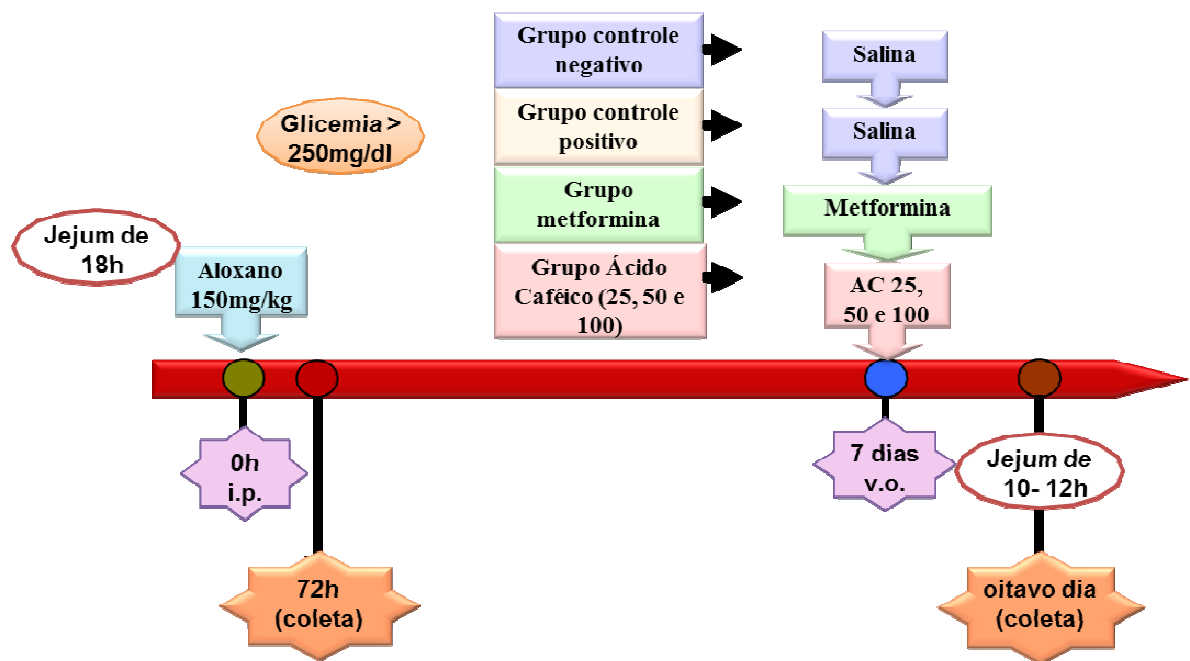
Para indução do diabetes, os animais foram mantidos em jejum de sólidos por 18 horas. Após este período, foi administrada uma injeção intraperitoneal de aloxano na dose de 150mg/kg. Setenta e duas horas após a indução, os animais foram submetidos a um novo

jejum alimentar de 6-8he, posteriormente, realizou-se uma coleta de sangue para avaliar os níveis glicêmicos dos animais. Aqueles que obtiveram glicemia maior ou igual a 250mg/dL (QIetal., 2008) foram considerados diabéticos.

Os animais diabéticos foram divididos de acordo com o valor da média da glicemia nos seguintes grupos (n=8): controle negativo (CN), controle positivo (CP), metformina (MET), ácido cafeico 25mg/kg (AC 25), ácido cafeico 50mg/kg (AC 50) e ácido cafeico 100mg/kg (AC 100). O tratamento foi realizado uma vez ao dia, durante 7 dias, por via oral, por meio da técnica de gavagem. Os grupos controle negativo e positivo foram tratados com salina, o grupo MET recebeu metformina 50 mg/Kg e nos grupos AC 25, AC 50 e AC 100 administrou-se ácido cafeico nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, respectivamente.

No dia seguinte ao último tratamento, os animais foram submetidos a um jejum de sólidos de 10-12h para realização da coleta de sangue, via plexo orbital, e posterior determinação dos parâmetros bioquímicos glicose, colesterol total e triglicerídeos, utilizando-se kits de diagnósticos (Labtest) em analisador semi-automático (Labquest).

Figura 13 - Esquema do delineamento experimental do protocolo de diabetes induzida pelo aloxano.



Fonte: modificado de FERREIRA (2010).

4.6 Obtenção das amostras para determinações bioquímicas

Para a obtenção do plasma e posterior análise dos parâmetros laboratoriais bioquímicos, cerca de 1,0-1,5mL sangue foram coletados pelo plexo orbital em microtubos do tipo Eppendorf[®] com 20μL de heparina sódica (500UI/mL). As amostras ficaram em repouso por no mínimo meia hora e no máximo 2 horas, antes da centrifugação (centrífuga Sigma[®] 4K15[®]) que foi realizada a 3500rpm, durante 15 minutos. Para tanto os camundongos foram submetidos a jejum alimentar de 6-8h, para os protocolos de dislipidemia, enquanto que para o estudo de diabetes, os animais foram privados de sólidos por 10-12h.

4.7 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para analisar a significância das diferenças entre os animais dos grupos foi utilizado a ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls, sendo considerado significativo um $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software GraphPad Prism 5.0.

5 RESULTADOS

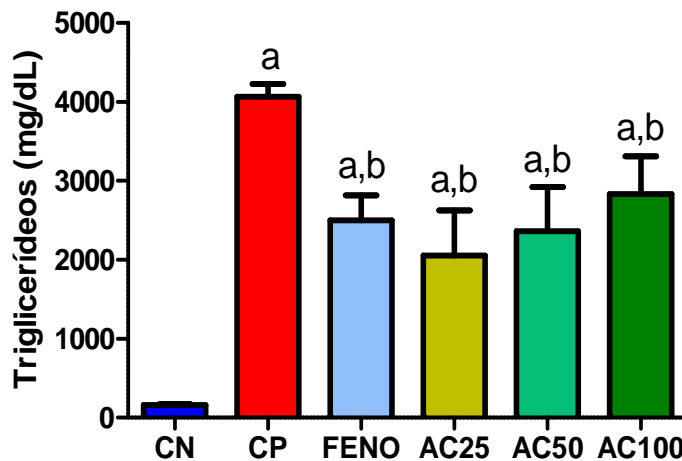
5.1 Protocolo de dislipidemia induzida por Triton WR-1339[®]

5.1.1 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de triglicerídeos após indução da dislipidemia pelo Triton WR-1339[®]

A administração de Triton WR-1339[®] (400mg/Kg) foi capaz de induzir um expressivo aumento nos níveis de triglicerídeos (2406,17%) do grupo CP ($4060 \pm 163,40$ mg/dL) em relação ao CN ($162,00 \pm 11,86$ mg/dL) (Figura 14 e Tabela 1).

Na primeira coleta, realizada 24h após a indução, verificou-se que os camundongos tratados com o ácido cafeico nas doses de 25 ($2051,00 \pm 569,80$ mg/dL), 50 ($2361,00 \pm 557,40$ mg/dL) e 100mg/kg ($2827,00 \pm 481,20$ mg/dL) proporcionaram uma redução nos níveis de triglicerídeos em relação ao CP ($4060 \pm 163,40$ mg/dL), correspondente a 49,48%, 41,84% e 30,36%, respectivamente. O grupo tratado com o fenofibrato 200mg/kg, causou redução de 38,47% em relação ao CP (Figura 14).

Figura 14 - Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339[®]



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média ± E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: Fenofibrato 200mg/kg;

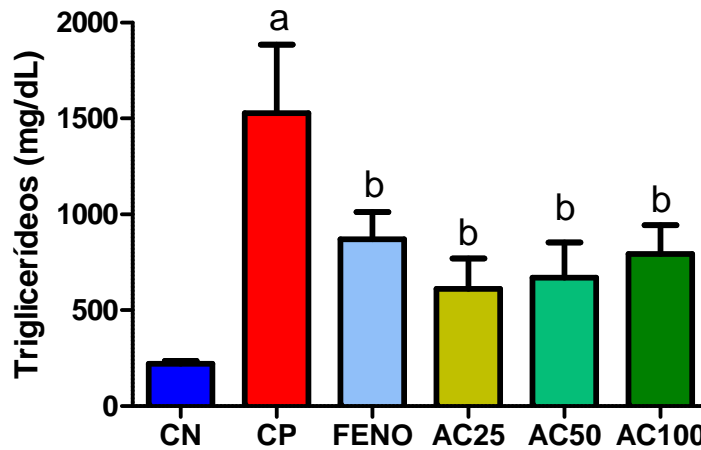
AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100mg/Kg, a: p<0,05 em relação ao grupo CN; b: p<0,05 em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

O comportamento relatado acima se repete após 48 horas da injeção intraperitoneal de triton. Uma vez que os grupos CN ($220,80 \pm 14,45$ mg/dL) e CP ($1527,00 \pm 359,50$ mg/dL) ainda apresentavam diferença significativa ($p < 0,05$) nos níveis de triglicerídeos plasmáticos (Figura 15 e Tabela 1). As três doses de ácido cafeico, AC 25 ($610,00 \pm 158,70$ mg/dL), AC 50 ($668,80 \pm 185,80$ mg/dL) e AC 100 ($794,40 \pm 149,20$ mg/dL), mantiveram a redução na concentração de triglicerídeos plasmáticos de 60,05%, 56,20% e 47,97%, respectivamente, sendo todas as doses mais eficazes do que o grupo tratado com o medicamento de referência, FENO ($871,30 \pm 141,40$ mg/dL), o qual obteve uma redução de 42,94% (Figura 15).

Figura 15 - Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 48 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339[®]



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: Fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

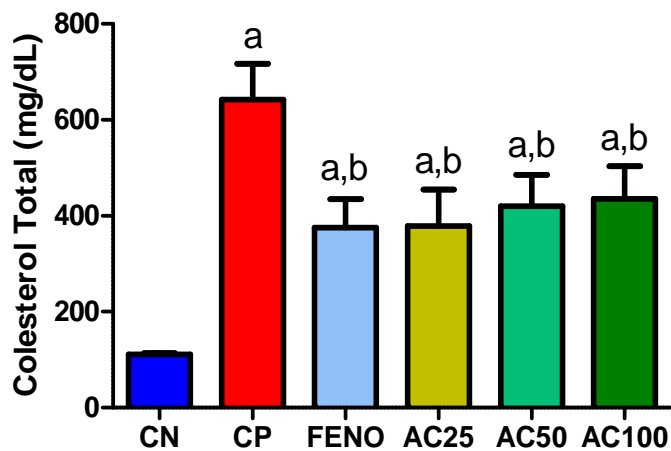
AC 100: ácido cafeico 100mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.1.2 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de colesterol total após indução da dislipidemia pelo Triton WR-1339[®]

A administração do Triton WR-1339[®] causou um aumento no colesterol total, 24 horas após a indução, uma vez que os grupos CN ($111,0 \pm 2,556$ mg/dL) e CP ($642,50 \pm 74,44$ mg/dL) apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), representando uma elevação de 478,82% do CP (Figura 16 e Tabela 1).

Os grupos tratados com ácido cafeico nas doses 25, 50 e 100 mg/Kg e o fenofibrato 200mg/Kg apresentaram diminuição significativa do colesterol total plasmático ($378,80 \pm 76,03$ mg/dL, $420,00 \pm 65,95$ mg/dL, $435,70 \pm 68,06$ mg/dL e $375,70 \pm 59,11$ mg/dL, respectivamente) quando comparado com o CP ($642,50 \pm 74,44$ mg/dL) (Figura 16).

Figura 16 - Efeito do ácido cafeico sobre a hipercolesterolemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339[®]



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: Fenofibrato 200mg/kg;

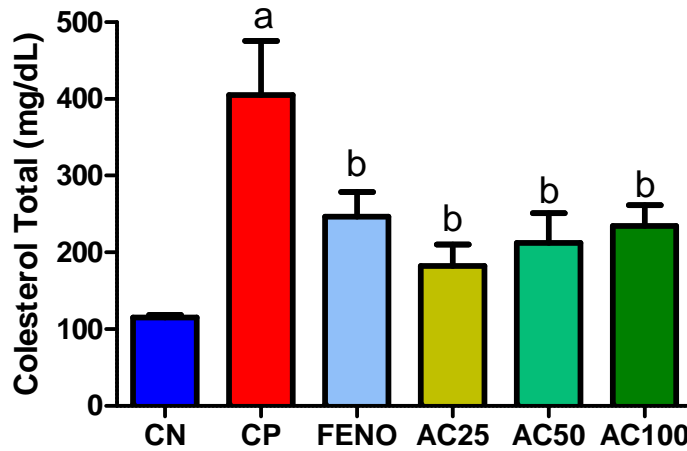
AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Essa hipercolesterolemia permaneceu 48 horas após a administração do triton, bem como a redução do colesterol total promovida pelas doses de ácido cafeico (25, 50 e 100 mg/Kg), correspondendo a uma diminuição de 55,03% pelo AC 25 ($182,10 \pm 27,88$ mg/dL), 47,62% pelo AC 50 ($212,11 \pm 38,80$ mg/dL) e 42,14% ($234,30 \pm 27,31$ mg/dL) pelo AC100 em relação ao CP ($405,00 \pm 70,69$ mg/dL). O grupo que recebeu fenofibrato 20mg/Kg obteve uma redução de 39,10% (Figura 17).

Figura 17- Efeito do ácido cafeico sobre a hipercolesterolemia 48 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: Fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 1- Efeito do ácido caféico sobre os níveis de colesterol total e triglicerídeos em camundongos com dislipidemia induzida por triton WR1339®

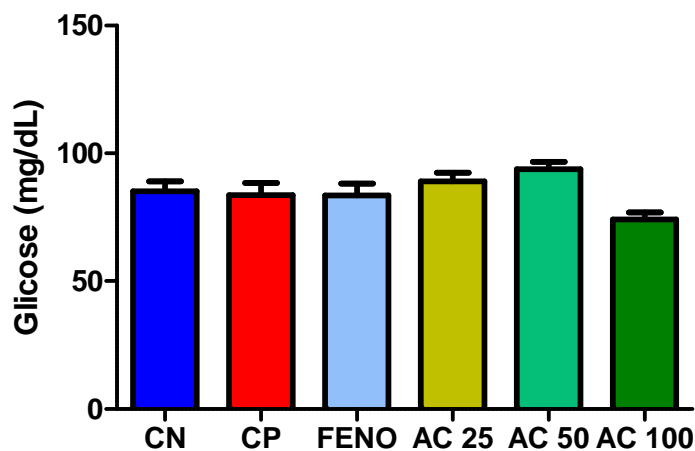
Grupos	Dose (mg/Kg)	Colesterol Total (mg/dL)		Triglicerídeos (mg/dL)	
		24h	48h	24h	48h
Controle negativo	-	111,00 \pm 2,556	115,00 \pm 3,373	162,00 \pm 11,86	220,80 \pm 14,45
Contole positivo	-	642,50 \pm 74,44 ^a	405,00 \pm 70,69 ^a	4060,00 \pm 163,40 ^a	1527,0 \pm 359,50 ^a
Fenofibrato	20	375,70 \pm 59,11 ^{a,b}	246,40 \pm 32,18 ^b	2498,00 \pm 318,00 ^{a,b}	871,30 \pm 141,40 ^b
	25	378,80 \pm 76,03 ^{a,b}	182,10 \pm 27,88 ^b	2051,00 \pm 569,80 ^{a,b}	610,00 \pm 158,70 ^b
Ácido caféico	50	420,00 \pm 65,95 ^{a,b}	212,11 \pm 38,80 ^b	2361,00 \pm 557,40 ^{a,b}	668,80 \pm 185,80 ^b
	100	435,70 \pm 68,06 ^{a,b}	234,30 \pm 27,31 ^b	2827,00 \pm 481,20 ^{a,b}	794,40 \pm 149,20 ^b

Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), onde a= $p < 0,05$ vs controle negativo; b = $p < 0,05$ vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

5.1.3 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de glicose após indução da dislipidemia pelo Triton WR-1339[®]

Os animais que receberam Triton para indução de dislipidemia não apresentaram diferença significativa ($p < 0,001$) nas taxas plasmáticas de glicose em relação aos animais do grupo normal (CN) 24 horas após a administração do triton. Como pode ser visto na figura 18.

Figura 18 - Efeito do ácido cafeico sobre a glicose plasmática 24 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339[®]



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: Fenofibrato 200mg/kg;

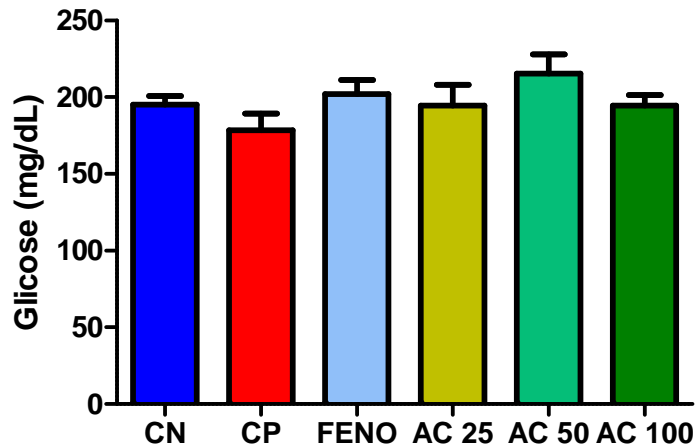
AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

O mesmo fato pode ser observado após 48 horas da indução pelo triton, onde o controle positivo e as drogas testadas não modificaram a concentração plasmática de glicose em relação ao grupo controle negativo. Dessa forma, não foi observada diferença significativa entre os grupos avaliados (Figura 19).

Figura 19- Efeito do ácido cafeico sobre a glicose plasmática 48 horas após a indução da dislipidemia pelo triton WR1339®



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: Fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 2- Efeito do ácido caféico sobre os níveis de glicose, camundongos com dislipidemia induzida por triton WR1339®

Grupos	Dose (mg/Kg)	Glicose (mg/dL)	
		24h	48h
Controle negativo	-	85,14 \pm 3,943	195,1 \pm 5,614
Controle positivo	-	83,67 \pm 4,755	178,4 \pm 10,93
Fenofibrato	20	83,56 \pm 4,646	201,9 \pm 9,294
	25	89,00 \pm 3,399	194,4 \pm 13,60
Ácido caféico	50	93,83 \pm 2,868	215,3 \pm 12,53
	100	74,22 \pm 2,686	194,6 \pm 6,878

Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), onde a= $p < 0,05$ vs controle negativo; b = $p < 0,05$ vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

5.1.5 Avaliação da atividade antioxidante do ácido cafeico após protocolo de dislipidemia induzida pelo Triton WR-1339®

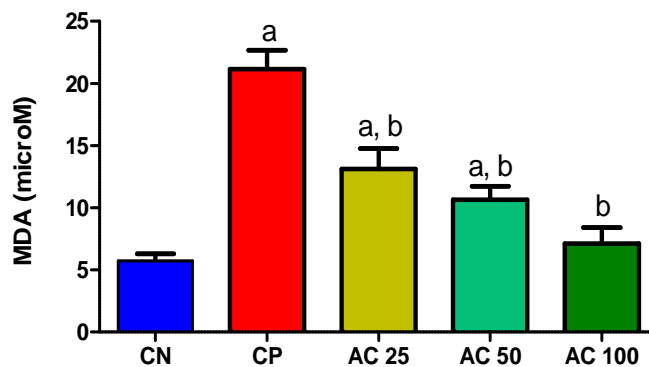
5.1.5.1 Malondialdeído (MDA)

Avaliou-se o efeito do ácido cafeico sobre a peroxidação lipídica hepática induzida pelo triton através da estimação do malondialdeído usando o teste do ácido tiobarbitúrico.

Na figura 20, verifica-se que a dislipidemia induzida pelo triton foi capaz de promover um aumento de 269,99% nos níveis de TBARS, ao se comparar os grupos CN ($5,719 \pm 0,5903$ microM) e CP ($21,16 \pm 1,513$ microM).

O ácido cafeico nas doses de 25 ($13,11 \pm 1,652$ microM), 50 ($10,65 \pm 1,078$ microM) e 100 mg/kg ($7,114 \pm 1,291$ microM) reduziram significativamente a formação de MDA quando comparados ao CP ($21,16 \pm 1,513$ microM) sendo estas reduções correspondentes a 38,04%, 49,67% e 66,38% respectivamente (Figura 24 e Tabela 3).

Figura 20- Efeito do ácido cafeico sobre a peroxidação lipídica, determinada pelos níveis de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico-TBARS, após protocolo de dislipidemia induzida pelo triton WR 1339®



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média ± E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

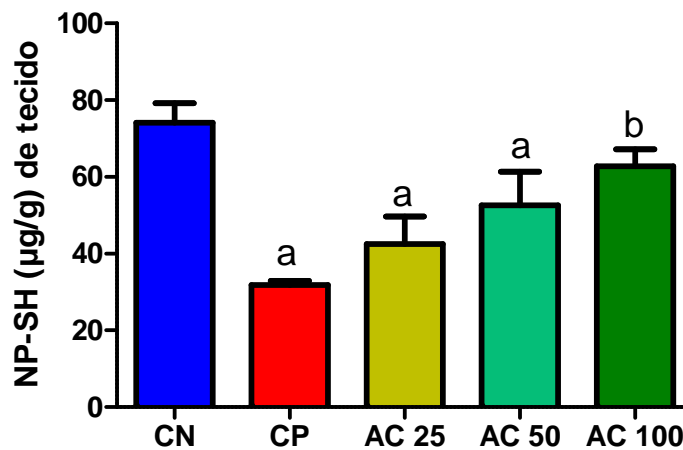
AC 100: ácido cafeico 100mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.1.5.2 Grupos sulfidrílicos não-proteicos

Os animais que receberam a dose de 400 mg/kg de triton (CP) mostraram redução significativa nos níveis de NP-SH ($31,80 \pm 1,110 \mu\text{g/g}$ tecido) quando comparados ao grupo normal (CN – $74,15 \pm 50,58 \mu\text{g/g}$ tecido).

De acordo com a figura 21 e tabela 3, o ácido cafeico na dose de 100 mg/Kg foi capaz de restaurar de maneira significativa, os níveis de NP-SH ($62,78 \pm 4,427 \mu\text{g/g}$ tecido) em comparação com o grupo controle positivo ($31,80 \pm 1,110 \mu\text{g/g}$ tecido).

Figura 21- Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-proteicos (NP-SH) após protocolo de dislipidemia induzida pelo triton WR 1339



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média ± E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

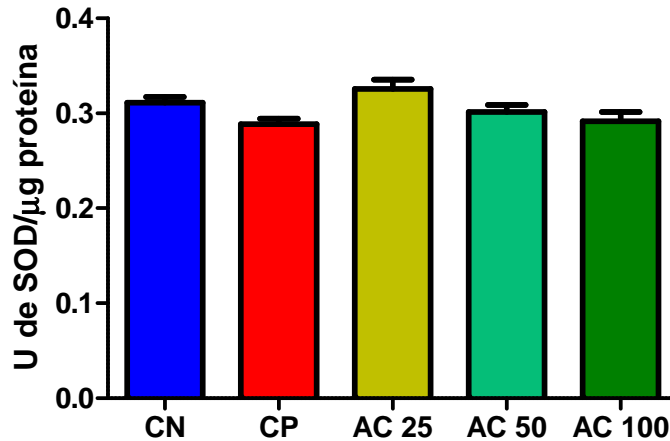
AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.1.5.3 Superóxido dismutase

A indução de dislipidemia com o triton não provocou diferença significativa nos níveis hepáticos de SOD entre todos os grupos avaliados (Figura 22 e Tabela 3).

Figura 22- Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de Superóxido dismutase (SOD) após protocolo de dislipidemia induzida pelo triton WR 1339®



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média ± E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: p<0,05 em relação ao grupo CN; **b**: p<0,05 em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 3- Efeito do ácido caféico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP—SH), peroxidação lipídica (MDA) e Superóxido dismutase (SOD) em camundongos com dislipidemia induzida por triton WR1339®

Grupos	Dose (mg/Kg)	MDA (microM)	Glutationa (μg/g tecido)	SOD (U/g proteína)
Controle negativo	-	5,719 ± 0,5903	74,15 ± 50,58	0,3112 ± 0,006
Controle positivo	-	21,16 ± 1,513 ^a	31,80 ± 1,110 ^a	0,2884 ± 0,005
Ácido Cafeico	25	13,11 ± 1,652 ^{a,b}	42,58 ± 7,159 ^a	0,3256 ± 0,009
	50	10,65 ± 1,078 ^{a,b}	52,64 ± 8,751 ^a	0,3015 ± 0,007
	100	7,114 ± 1,291 ^b	62,78 ± 4,427 ^b	0,2914 ± 0,017

Os dados representam a média ± erro padrão da média (EPM), onde a= p<0,05 vs controle negativo; b = p<0,05 vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

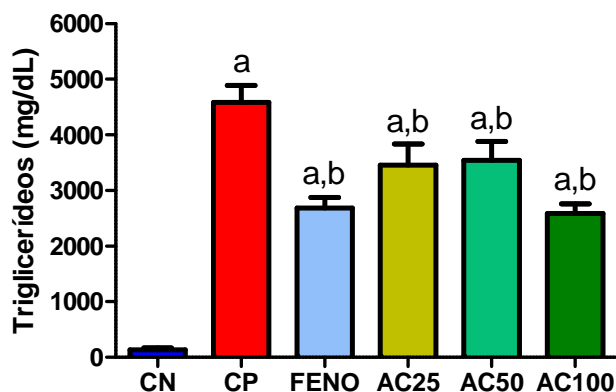
5.2 Protocolo de dislipidemia induzida por Poloxamer-407

5.2.1 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de triglicerídeos após indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407

A análise dos dados demonstrou que o modelo de indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407 foi capaz de causar uma hipertrigliceridemia nas 24 e 48h quando comparado o grupo CN ($135,40 \pm 30,26$ mg/dL; $161,30 \pm 59,00$ mg/dL, respectivamente) ao grupo CP ($4583,00 \pm 305,40$ mg/dL; $722,80 \pm 110,50$ mg/dL, respectivamente), correspondendo a um aumento de 3284,70% nas 24h e de 348,10% nas 48h após a injeção intraperitoneal de P-407.

Após a primeira coleta, realizada 24h após a indução, os resultados obtidos demonstraram que houve redução significativa dos níveis séricos de triglicerídeos nas três doses de ácido cafeico utilizadas: AC25 ($3458,00 \pm 381,60$ mg/dL), AC50 ($3542,00 \pm 339,00$ mg/dL) e AC100 ($2585,00 \pm 177,80$ mg/dL) quando comparadas ao CP ($4583,00 \pm 305,40$ mg/dL). A dose AC 100 causou uma redução semelhante ao grupo tratado com o medicamento de referência FENO ($2680,00 \pm 196,20$ mg/dL) (Figura 23 e Tabela 4).

Figura 23- Efeito do ácido cafeico sobre a hipertrigliceridemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média ± E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: fenofibrato 200mg/kg;

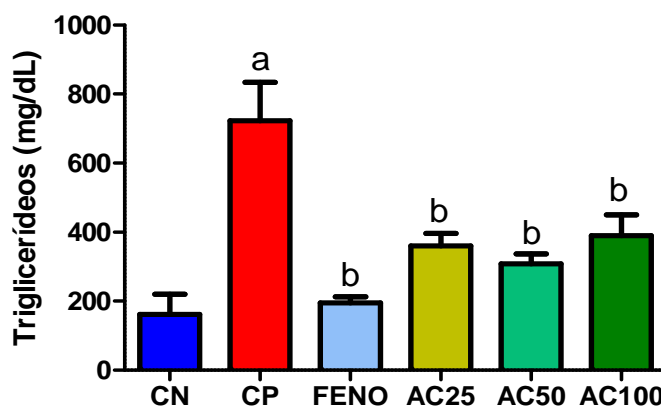
AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: p<0,05 em relação ao grupo CN; **b**: p<0,05 em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Após 48h da injeção intraperitoneal de P-407, AC25 ($360,70 \pm 35,85$ mg/dL vs $722,80 \pm 110,50$ mg/dL), AC50 ($307,50 \pm 29,67$ mg/dL vs $722,80 \pm 110,50$ mg/dL) e AC100 ($389,50 \pm 61,02$ mg/dL vs $722,80 \pm 110,50$ mg/dL) bem como fenofibrato ($195,40 \pm 17,29$ mg/dL vs $722,80 \pm 110,50$ mg/dL), mantiveram uma redução significativa desse analito em 50,09%, 57,45%, 46,11% e 72,96%, respectivamente (Figura 24 e Tabela 4).

Figura 24- Efeito do ácido caféico sobre a hipertrigliceridemia 48 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

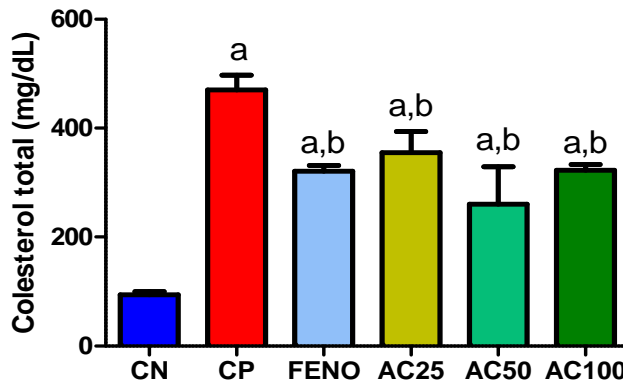
AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.2.2 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de colesterol total após indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407

Obteve-se também indução de hipercolesterolemia nas 24h (CN: $94,25 \pm 5,20$ vs CP: $470,30 \pm 27,03$ mg/dL) e 48h (CN: $82,00 \pm 6,30$ vs CP: $242,50 \pm 26,70$ mg/dL), correspondendo a uma elevação de 399,00% e 195,73%, respectivamente.

Após 24h da indução com triton, tanto AC25 ($354,80 \pm 38,75$ mg/dL vs $470,30 \pm 27,03$ mg/dL) quanto AC50 ($260,40 \pm 68,65$ mg/dL vs $470,30 \pm 27,03$ mg/dL) e AC100 ($322,70 \pm 10,52$ mg/dL vs $470,30 \pm 27,03$ mg/dL), bem como fenofibrato ($320,70 \pm 11,25$ mg/dL vs $470,30 \pm 27,03$ mg/dL) foram capazes de diminuir significativamente os níveis de colesterol em 24,55%, 44,63%, 31,38% e 31,81%, respectivamente (Figura 25 e Tabela 4).

Figura 25- Efeito do ácido caféico sobre a hipercolesterolemia 24 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: fenofibrato 200mg/kg;

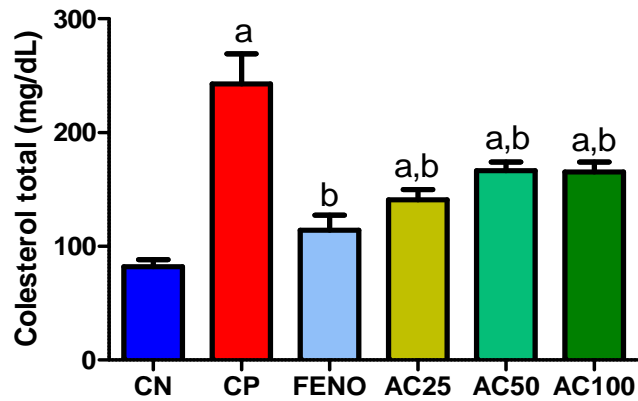
AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

O mesmo efeito pôde ser observado após 48 horas da indução, em que as três doses de ácido caféico AC25 ($140,80 \pm 8,97$ mg/dL vs $242,50 \pm 26,70$ mg/dL), AC50 ($166,30 \pm 7,89$ mg/dL vs $242,50 \pm 26,70$ mg/dL), AC100 ($165,30 \pm 8,85$ mg/dL vs $242,50 \pm 26,70$ mg/dL) e fenofibrato ($114,20 \pm 13,03$ mg/dL vs $242,50 \pm 26,70$ mg/dL) foram capazes de reduzir a hipercolesterolemia causada pelo P-407. Correspondendo a uma diminuição em 41,93%, 31,42%, 31,85% e 52,90%, respectivamente (Figura 26 e Tabela 4).

Figura 26- Efeito do ácido caféico sobre a hipercolesterolemia após 48 horas da indução da dislipidemia pelo poloxamer-407.



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido caféico 25mg/Kg;

AC 50: ácido caféico 50mg/Kg;

AC 100: ácido caféico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 4- Efeito do ácido caféico sobre os níveis de colesterol total e triglicerídeos em camundongos com dislipidemia induzida por Poloxamer-407

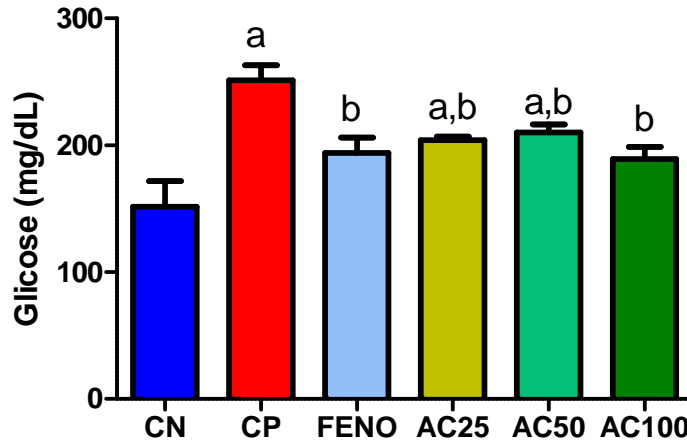
Grupos	Dose (mg/Kg)	Colesterol Total (mg/dL)		Triglicerídeos (mg/dL)	
		24h	48h	24h	48h
Controle negativo	-	94,25 ± 10,53	82,00 ± 12,68	135,40 ± 67,66 ^a	161,30 ± 118,00 ^a
Controle positivo	-	470,30 ± 66,20 ^a	242,50 ± 65,40 ^a	4583 ± 748,70 ^{a,b}	722,80 ± 70,70 ^b
Fenofibrato	200	320,70 ± 7,57 ^{a,b}	114,20 ± 39,10 ^b	2680 ± 480,70 ^{a,b}	195,40 ± 48,89 ^b
	25	354,80 ± 6,65 ^{a,b}	140,80 ± 1,98 ^{a,b}	3458 ± 934,70 ^{a,b}	360,70 ± 87,80 ^b
	50	260,40 ± 53,50 ^{a,b}	166,30 ± 9,33 ^{a,b}	3542 ± 830,30 ^{a,b}	307,50 ± 72,68 ^b
	100	322,70 ± 27,84 ^{a,b}	165,30 ± 1,69 ^{a,b}	2585 ± 435,60 ^{a,b}	389,50 ± 49,50 ^b

Os dados representam a média ± erro padrão da média (EPM), onde a= p<0,05 vs controle negativo; b = p<0,05 vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

5.2.3 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de glicose após indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407

Verificou-se uma elevação, de forma significativa, da glicose sanguínea para 251,30 ± 11,79 mg/dL, quando comparado com o grupo controle negativo (151,70 ± 20,03 mg/dL) com a administração do poloxamer. Assim como, 24 horas após sua administração, os grupos que receberam tratamento com o ácido cafeico nas doses 25 (204,00 ± 2,915 mg/dL), 50 (210,00 ± 6,325 mg/dL) e 100 mg/kg (189,00 ± 9,539 mg/dL) e fenofibrato 200 mg/Kg (193,80 ± 12,48 mg/dL) promoveram uma diminuição nos níveis desse analito de 18,82%, 16,43%, 24,79% e 22,88% ao se comparar com o grupo controle positivo (251,30 ± 11,79 mg/dL) (Figura 27 e Tabela 5).

Figura 27- Efeito do ácido caféico sobre a glicose plasmática 24 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

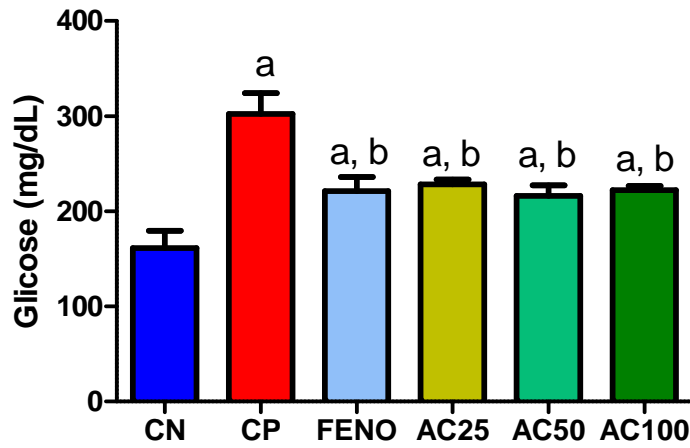
AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Na coleta após 48 horas da indução da dislipidemia, a diferença estatística da glicose sanguínea entre os grupos CN ($161,00 \pm 18,37$ mg/dL) e CP ($302,50 \pm 21,63$ mg/dL) permaneceu.

A redução significativa dos níveis de glicose sanguínea ocorreu de modo similar nos grupos AC 25 ($228,00 \pm 5,612$ mg/dL), AC 50 ($216,00 \pm 11,11$ mg/dL), AC 100 ($222,00 \pm 18,37$ mg/dL) e FENO ($221,00 \pm 4,359$ mg/dL) em comparação com o controle positivo ($302,50 \pm 21,63$ mg/dL) (Figura 28 e Tabela 5).

Figura 28- Efeito do ácido caféico sobre a glicose plasmática 48 horas após a indução da dislipidemia pelo poloxamer-407



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

FENO: fenofibrato 200mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 5- Efeito do ácido cafeico sobre a concentração de glicose sanguínea após 24 e 48 horas da indução da dislipidemia pelo Poloxamer-407.

Grupos Experimentais	Glicose (mg/dL)	
	24 horas	48 horas
CN	151,70 \pm 20,03	161,00 \pm 18,37
CP	251,30 \pm 11,79 ^a	302,50 \pm 21,63 ^a
FENO	193,80 \pm 12,48 ^b	221,00 \pm 4,359 ^{a,b}
AC 25	204,00 \pm 2,915 ^{a,b}	228,00 \pm 5,612 ^{a,b}
AC 50	210,00 \pm 6,325 ^{a,b}	216,00 \pm 11,11 ^{a,b}
AC 100	189,00 \pm 9,539 ^b	222,00 \pm 18,37 ^{a,b}

Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), onde a= $p < 0,05$ vs controle negativo; b = $p < 0,05$ vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

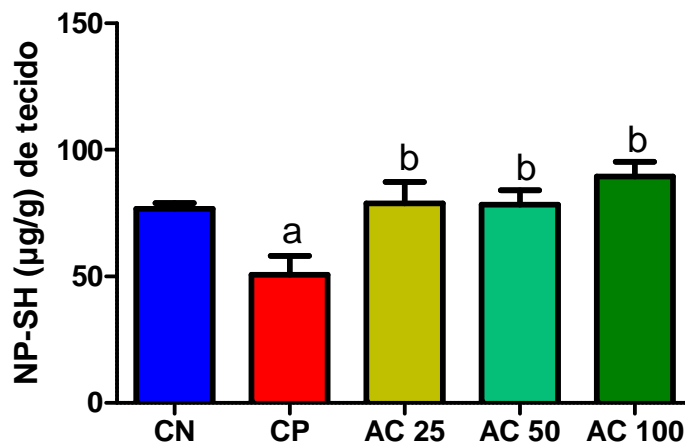
5.2.4 Avaliação da atividade antioxidante do ácido cafeico após protocolo de dislipidemia induzida pelo Poloxamer-407

5.2.4.1 Grupos sulfidrílicos não-protéicos

A indução da dislipidemia com o poloxamer promoveu uma redução significativa nos níveis de NP-SH ($50,64 \pm 7,587 \mu\text{g/g}$ tecido) quando comparados ao controle negativo ($76,64 \pm 2,302 \mu\text{g/g}$ tecido).

A figura 29 e a tabela 6 demonstram que o tratamento com ácido cafeico nas doses de 25 ($78,87 \pm 8,415 \mu\text{g/g}$ tecido), 50 ($78,37 \pm 5,707 \mu\text{g/g}$ tecido) e 100 ($89,49 \pm 5,787 \mu\text{g/g}$ tecido) conseguiram reestabelecer, significativamente, os níveis de NP-SH em comparação com o grupo controle positivo ($50,64 \pm 7,587 \mu\text{g/g}$ tecido).

Figura 29- Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-proteicos (NP-SH) após protocolo de dislipidemia induzida pelo Poloxamer-407



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média ± E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

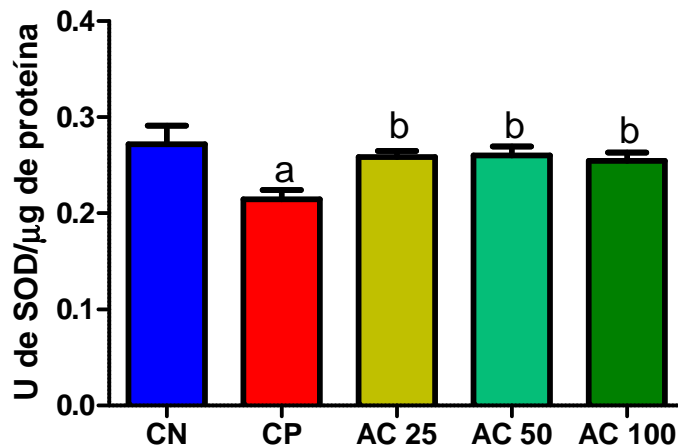
AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.2.4.2 Superóxido dismutase

Os níveis de superóxido dismutase após a administração intraperitoneal de triton apresentaram redução ao se comparar o grupo controle positivo ($0,2144 \pm 0,009$ U/ μ g proteína) com o controle negativo ($0,2718 \pm 0,019$ U/ μ g proteína). (Figura 30, Tabela 6).

Após o tratamento, verificou-se que o ácido cafeico nas doses de 25 ($0,2585 \pm 0,006$ U/ μ g proteína), 50 ($0,2603 \pm 0,009$ U/ μ g proteína) e 100 mg/kg ($0,2545 \pm 0,008$ U/ μ g proteína) foi capaz de elevar significativamente os níveis de SOD em relação ao controle positivo ($0,2144 \pm 0,009$ U/ μ g proteína).

Figura 30- Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de Superóxido dismutase (SOD) após protocolo de dislipidemia induzida pelo Poloxamer-407.



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg. **a:** $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b:** $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 6- Efeito do ácido cafeico sobre os níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP—SH) e Superóxido dismutase (SOD) em camundongos com dislipidemia induzida por Poloxamer-407

Grupos	Dose (mg/Kg)	NP-SH (µg/g tecido)	SOD (U/µg proteína)
Controle negativo	-	76,64 ± 2,302	0,2718 ± 0,019
Controle positivo	-	50,64 ± 7,587 ^a	0,2144 ± 0,009 ^a
	25	78,87 ± 8,415 ^b	0,2585 ± 0,006 ^b
Ácido Cafeico	50	78,37 ± 5,707 ^b	0,2603 ± 0,009 ^b
	100	89,49 ± 5,787 ^b	0,2545 ± 0,008 ^b

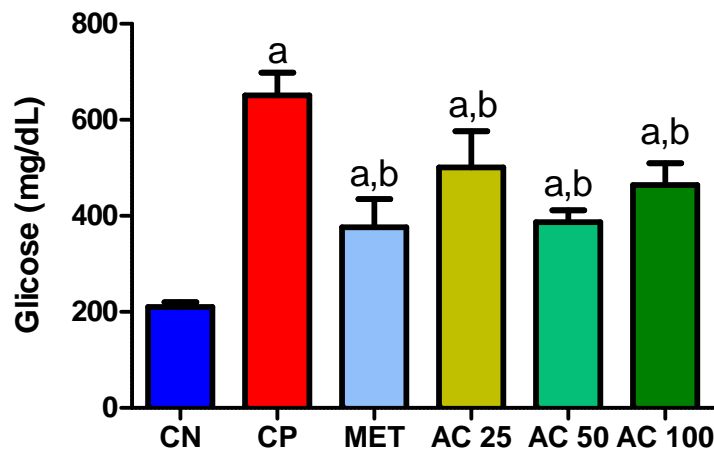
Os dados representam a média ± erro padrão da média (EPM), onde a= p<0,05 vs controle negativo; b = p<0,05 vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

5.3 Protocolo de diabetes induzida por aloxano

5.3.1 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de glicose após indução da diabetes pelo aloxano

O aloxano induziu uma hiperglicemia estatisticamente significativa ao comparar os grupos CN (210,00 ± 10,66mg/dL) e CP (650,80 ± 47,78mg/dL) correspondendo a um aumento de 309,9%. Os grupos AC25 (500,80 ± 75,43mg/dL), AC50 (387,00 ± 24,93 mg/dL), AC100 (464,50 ± 45,45 mg/dL) e metformina (376,00 ± 58,70 mg/dL) apresentaram reduções significativas nos níveis plasmáticos de glicose em 23,04%, 40,53%, 30,16% e 42,22%, respectivamente, em relação ao grupo CP (Figura 31 e Tabela 7).

Figura 31- Efeito do ácido cafeico sobre a hiperglicemia induzida por aloxano após tratamento de 7 dias.



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

MET: Metformina 50mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

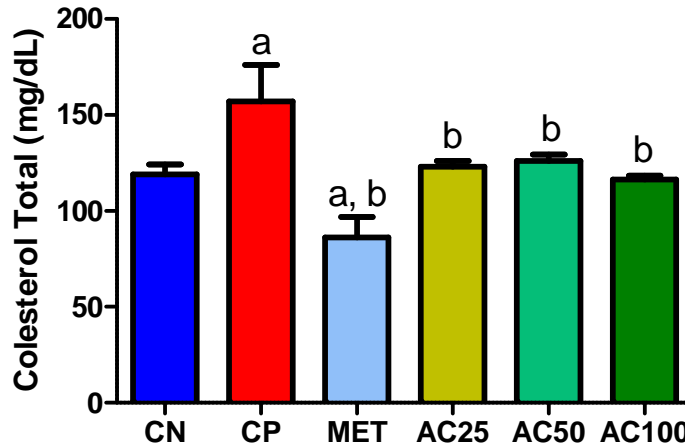
AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.3.2 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de colesterol total após indução da diabetes pelo aloxano

Quanto ao colesterol total, o aloxano foi capaz de aumentar esse parâmetro de forma significativa em 31,93% comparando-se o grupo CN ($119,00 \pm 5,263$ mg/dL) ao grupo CP ($157,00 \pm 19,01$ mg/dL). Verificou-se que os grupos AC25 ($123,00 \pm 3,109$ mg/dL), AC50 ($126,00 \pm 3,488$ mg/dL) e AC100 ($116,40 \pm 1,990$ mg/dL) reduziram este parâmetro de forma significativa em 21,65%, 19,74% e 25,85%, respectivamente. O grupo tratado com metformina 50 mg/kg ($86,25 \pm 10,66$ mg/dL) reduziu em 45,06% este parâmetro (Figura 32 e Tabela 7).

Figura 32- Efeito do ácido cafeico sobre a concentração plasmática de colesterol total no modelo de diabetes induzida por aloxano após tratamento de 7 dias.



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

MET: Metformina 50mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

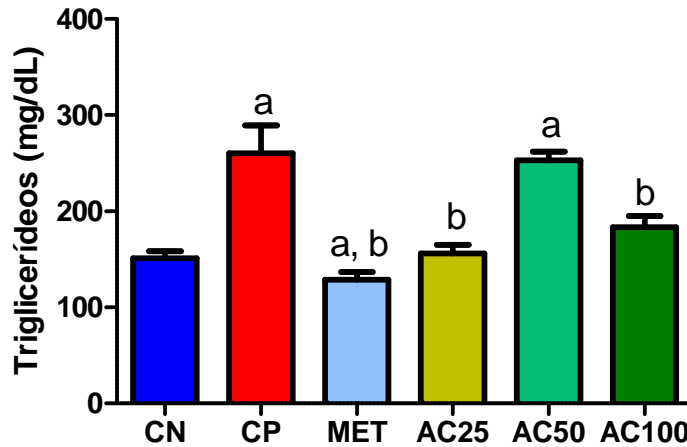
AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

5.3.3 Efeito do ácido cafeico nos níveis plasmáticos de triglicerídeos após indução da diabetes pelo aloxano

A injeção intraperitoneal de aloxano aumentou em 72,38% a concentração de triglicerídeos plasmáticos comparando-se o grupo CP ($260,30 \pm 28,83$ mg/dL) ao grupo CN ($151,00 \pm 7,494$ mg/dL). Os grupos AC 25 ($156,30 \pm 9,022$ mg/dL) e AC 100 ($183,50 \pm 11,74$ mg/dL) foram capazes de reduzir esse parâmetro em relação ao grupo CP ($260,30 \pm 28,83$ mg/dL). A diminuição desse analito promovida pelos grupos AC 25 e AC 100 foram correspondentes a 39,95% e 29,50%, enquanto que o grupo tratado com metformina 50 mg/Kg reduziu em 50,51% os níveis de TG (Figura 33 e Tabela 7).

Figura 33- Efeito do ácido cafeico sobre a concentração plasmática de triglicerídeos no modelo de diabetes induzida por aloxano após tratamento de 7 dias.



Os resultados dos grupos experimentais (n=8) estão expressos como média \pm E.P.M, sendo que

CN: controle negativo;

CP: controle positivo;

MET: Metformina 50mg/kg;

AC 25: ácido cafeico 25mg/Kg;

AC 50: ácido cafeico 50mg/Kg;

AC 100: ácido cafeico 100 mg/Kg, **a**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; **b**: $p < 0,05$ em relação ao grupo CP (ANOVA- Neuman Keuls).

Tabela 7- Efeito do ácido cafeico sobre as concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total e triglicerídeos no modelo de diabetes induzida por aloxano

Grupos experimentais	Glicose (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
CN	210,00 \pm 10,66	119,00 \pm 5,263	151,00 \pm 7,494
CP	650,80 \pm 47,78 ^a	157,00 \pm 19,01 ^a	260,30 \pm 28,83 ^a
MET	376,00 \pm 58,70 ^{a,b}	86,25 \pm 10,66 ^{a,b}	128,80 \pm 7,941 ^{a,b}
AC 25	500,80 \pm 75,43 ^{a,b}	123,00 \pm 3,109 ^b	156,30 \pm 9,022 ^b
AC 50	387,00 \pm 24,93 ^{a,b}	126,00 \pm 3,488 ^b	260,30 \pm 28,83 ^a
AC 100	465,00 \pm 45,45 ^{a,b}	116,40 \pm 1,990 ^b	252,80 \pm 8,920 ^b

Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), onde a= $p < 0,05$ vs controle negativo; b = $p < 0,05$ vs controle positivo (ANOVA e teste de Student Newman Keuls).

6 DISCUSSÃO

Diversos protocolos são utilizados para explorar possíveis mecanismos hipolipemiantes de drogas em animais. Em estudos pré-clínicos, são usados surfactantes para induzir a hiperlipidemia aguda, sendo empregados para o estudo do metabolismo do colesterol e dos triglicerídeos, bem como para avaliar a atividade hipolipidêmica de substâncias de origem natural (CHEN; LI, 2007; MANDUKHAIL; AZIZ; GILANI, 2010; OULMOUSEN et al., 2011). No presente trabalho, foram utilizados dois modelos para a indução de dislipidemia, sendo estes o Triton WR-1339 (tiloxapol) e o Poloxamer-407.

O Triton WR-1339 é um surfactante não iônico, que provoca um aumento drástico nos níveis de soro de triglicerídeos e colesterol total. A hipercolesterolemia ocorre devido ao aumento da atividade enzimática de 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA), a qual é responsável pela síntese hepática de colesterol, além de um efluxo do CT oriundo dos tecidos para a circulação (FRIEDMAN; BAYER, 1957). Já a hipertrigliceridemia, deve-se a inibição da atividade da lipoproteína lipase (LPL), responsável pela hidrólise de lipídeos do plasma, resultando no acúmulo de triglicerídeos e VLDL (VIJAYARAJ et al., 2011; SHRIVASTAVA et al. 2011). Associado a isso, acredita-se que o Triton forme uma camada na superfície das lipoproteínas, evitando a hidrólise, especialmente no caso das VLDL, provocada pela lipoproteína lipase (LPL), levando a um quadro de hipertrigliceridemia (HALL et al., 2000; PATIL; SARAF; DIXIT, 2004).

A hiperlipidemia induzida por TritonWR-1339 possui algumas semelhanças relevantes com o estado hiperlipidêmico humano ao aumentara superprodução de radicais livres, bem como pela regulação negativa do sistema antioxidante (VIJAYARAJ et al., 2011). O Poloxamer 407 (P-407) também se caracteriza como um surfactante não iônico e hidrofílico largamente utilizado em protocolos experimentais de hiperlipidemia, uma vez que ele aumenta as lipoproteínas do soro através de suas ações em vários níveis no metabolismo lipídico (JOHNSTON; PALMER, 1993; CHAUDHARY; BROCKS, 2013). Pode atuar inibindo a lipoproteína lipase e, conseqüentemente, causando a hidrólise de triglicerídeos. Tal fato pôde ser observado no estudo de Johnston. (2004) onde investigaram o efeito do P-407 na atividade da lipoproteína lipase e descobriram que, após 3h da injeção intraperitoneal de P-407 em ratos, a atividade da LPL diminuiu 95% em relação aos controles normais tratados com soro fisiológico. O poloxamer 407 também causa estimulação indireta da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMGCoA) e inibição da 7- α -hidroxilase, as quais são

enzimas que estão envolvidas na biossíntese de colesterol (JOHNSTON, 2004; LEE et al., 2012).

Estudos que avaliaram a administração de Triton em camundongos em intervalos de tempo mais longos verificou-se que há uma diminuição na taxa de produção de triglicédeos. Tal fato pôde ser possível pelo acúmulo de Triton que ocorre nos lisossomos, afetando diretamente o transporte de triglicédeos pelas VLDL, acumulando-se no fígado dos ratos, com conseqüente diminuição da produção hepática. Este aumento de triglicédeos hepático não é observado quando a dislipidemia é induzida por Poloxamer 407 (MILLAR et al., 2005).

No presente estudo, verificou-se que para indução da dislipidemia por meio da administração intraperitoneal tanto de Triton quanto de Poloxamer foi possível obter uma expressiva hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia nos camundongos relacionando-se os grupos controle negativo e controle positivo como já foi descrito.

Esses achados corroboram com os resultados que foram encontrados em outras pesquisas, demonstrando que o Triton (SASHIDHARA et al., 2013; ANANDHI et al., 2013; KWAK et al., 2010; VIJAYARAJ et al., 2011) e o Poloxamer (JOHNSTON, 2004; KWON et al., 2013; KOROLENKO et al., 2013) são conhecidamente indutores de hiperlipidemia sem apresentarem toxicidade aparente.

Nos protocolos realizados, a administração de ácido cafeico nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, obtiveram resultados significativos ao promover a redução dos níveis séricos de triglicédeos e colesterol total 24 e 48 horas após a indução de dislipidemia em ambos os modelos estudados.

Resultados semelhantes foram encontrados por Yao et al. (2014) utilizando extrato de polifenóis da maçã, que em um experimento de indução de hiperlipidemia com o Triton WR-1339, foi capaz de reduzir significativamente a concentração de triglicédeos no sangue de animais, assim como o grupo tratado com fenofibrato, obtendo também uma tendência na redução do colesterol total. O efeito hipotrigliceridêmico foi associado ao aumento da expressão da LPL. Tal enzima está diretamente envolvida no processamento lipolítico dos triglicédeos presentes nos quilomícrons e VLDL em tecidos periféricos.

Dessa forma, o aumento dos níveis de LPL favorece a hidrólise intravascular de lipoproteínas (LAPLANT et al., 2009) e a ativação de receptores PPAR pode regular sua produção, bem como diminuir a expressão de apo-C III que é um inibidor dessa enzima (EU et al., 2010).

Em outro estudo, no qual se verificou o efeito hipolipemiante de flavonoides totais isolados de folhas de amoreira (MTF) (*Morus alba L.*) em ratos tratados com 400 mg/kg de triton WR-1339, Chen e Li (2007) observaram que a quantidade de TG e CT sanguíneos foram reduzidos após o tratamento com o MTF de uma forma dose-dependente. Acredita-se que os flavonoides aumentam a resistência à oxidação da LDL do corpo, podendo inibir o processo aterosclerótico, embora ainda não haja nenhuma evidência direta. Os flavonoides extraídos de folhas de amoreira são identificados como compostos antioxidantes eficazes, sendo um dos mecanismos responsáveis por este efeito hipolipidêmico.

Al-Mansoub, Asmawi e Murugaiyah (2013), utilizando o modelo de indução de hiperlipidemia pelo Poloxamer 407, verificaram que o extrato aquoso e metanólico de *Garcinia atroviridis* apresentaram efeito anti-hiperlipidêmico ao reduzirem os níveis de colesterol total e triglicerídeos, além de outros parâmetros lipídicos terem sido significativamente elevados pela administração de Poloxamer 407. A atividade antioxidante de tal substância também foi demonstrada e atribuída à presença de compostos fenólicos na mesma.

O efeito hipocolesterolêmico do ácido cafeico e seus derivados extraídos da própolis em coelhos também foi verificado por Alves et al. (2008), obtendo uma redução na concentração plasmática de colesterol total em 30% (280 para 199 mg dL⁻¹). Sugeriu-se que o efeito hipolipidêmico encontrado nos coelhos tratados com a própolis pode ser explicado pelos flavonoides presentes, os quais possuem efeito antioxidante já descritos.

Karthikesan e Pari (2008), ao investigarem o efeito do ácido cafeico nas alterações induzidas por álcool nos níveis de lipídios no soro de ratos Wistar obtiveram, assim como nos resultados já demonstrados, uma diminuição significativa dos níveis de colesterol total e triglicerídeos após a administração oral de ácido cafeico 12mg/kg em ratos alimentados com etanol. A hipercolesterolemia causada pelo álcool está associada com a acumulação de ferro no fígado e o ácido cafeico, um dos principais compostos fenólicos da dieta, tem a capacidade de inibir a sobrecarga de ferro através do seu efeito quelante de metal. Além disso, o ácido cafeico inibe o estresse oxidativo, já sendo demonstrado que a presença dos grupos carboxílicos e hidroxilas podem eliminar os radicais livres e contribuir indiretamente para diminuir os níveis de lipídeos por redução ou inibição do processo de peroxidação lipídica, além de suas propriedades anti-inflamatórias já descritas.

Os resultados obtidos mostraram que os animais com dislipidemia induzida por Poloxamer 407, diferentemente do triton, elevaram também os níveis de glicose sanguínea.

Essa alteração foi reduzida pelo tratamento com ácido cafeico nas três doses (25, 50 e 100 mg/Kg).

De acordo com Liao et al. (2013), foi demonstrado a atividade do ácido cafeico na redução dos níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total, bem como da glicemia de jejum em camundongos com hiperlipidemia induzida por dieta rica em gordura. O ácido cafeico promoveu a fosforilação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), a qual ativa vias que geram o aumento de ATP, tais como a oxidação dos ácidos graxos, como também reduziu a atividade da HMG-CoA redutase, enzima limitadora da velocidade de síntese de colesterol, em comparação com ratos obesos. Além disso, o possível mecanismo pelo qual o ácido cafeico medeia a sua ação antidiabética pode ser devido a um aumento da expressão do transporte de glicose através do GLUT 4 do sangue para o tecido adiposo.

O fígado é considerado o maior órgão metabólico, responsável pela detoxificação de várias substâncias e que pode ser afetado indiretamente por produtos metabólicos nocivos produzidos em outros órgãos. Possui conteúdo substancial de proteínas e enzimas com grande capacidade antioxidante (JI 1993; BURNEIK et al., 2006). Além disso, o fígado pode ser um dos principais locais para a oxidação da LDL pelo citocromo P450 (AVIRAM; KENT; HOLLENBERG, 1999), um dos eventos primários e mais importantes para início e progressão da aterosclerose.

Muitos trabalhos têm relatado que a produção de EROS e o estresse oxidativo estão associados ao processo de aterogênese durante a hipercolesterolemia. O aumento dos lipídios na circulação sanguínea pode desencadear uma desregulação entre a produção de radicais livres e o sistema de defesa antioxidante em vários órgãos, como fígado, coração e rins, tendo assim um importante papel na inflamação crônica que ocorre em resposta a doenças como a aterosclerose. (ROCHA, 2009; RIZZO et al., 2009).

As lesões ateroscleróticas se desenvolvem devido a células pró-inflamatórias que se infiltram na parede vascular secretando grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio e enzimas oxidativas, ocasionando uma modificação oxidativa da lipoproteína de baixa densidade (LDL-ox), resultando na acumulação maciça de lipídios e a formação de células espumosas. Com o passar do tempo, o processo de acúmulo de lipoproteínas, macrófagos e linfócitos nas paredes dos vasos sanguíneos, levam a formação de grandes lesões instáveis que podem sofrer ruptura, formando trombos e oclusão dos vasos afetados (YAMAGUCHI et al., 2001; WEI et al., 2007).

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaais. Assim, espera-se que a suplementação da dieta com compostos antioxidantes aumente a resistência da LDL contra processos oxidativos e seus possíveis danos (WILCOX; CURB; RODRIGUEZ, 2008).

Estudos têm revelado que a utilização de suplementos como as vitaminas C e E, as quais são antioxidantes provenientes da dieta, previnem a progressão da doença aterosclerótica em várias condições experimentais, devido à alta capacidade desses compostos de remover EROS (SAINI et al., 2005).

Os compostos fenólicos também estão sendo associados a uma incidência mais baixa de doenças cardiovasculares possivelmente devido a uma potente atividade antioxidante que possuem e foram descritas na literatura, sendo essas geralmente observadas *in vitro* (HOLLMAN et al., 2011).

Na comparação quantitativa do comportamento cinético da inibição oxidativa utilizando os ácidos p-hidroxibenzóico, vanílico, sirínico, e 3,4-diidroxibenzóico e ácidos p-cumárico, ferúlico, sinápico e cafeico, verificou-se as diferenças de potenciais existentes entre alguns ácidos fenólicos, uma vez que a atividade antioxidante dos compostos estudados apresentou a seguinte ordem: ácido caféico > 3,4-diidroxibenzóico > sinápico > sirínico > ferúlico > p-cumárico > vanílico. De acordo com esse trabalho, a presença das hidroxilas nas posições 3 e 4 conferiu o maior potencial antioxidante do ácido cafeico e do 3,4 diidroxibenzóico. O tipo de composto, o grau de metoxilação e o número de hidroxilas são alguns dos parâmetros que podem estar relacionados com sua atividade antioxidante (GÓMEZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2007).

Desse modo, com a finalidade de avaliar os efeitos do ácido cafeico sobre o estresse oxidativo em decorrência da dislipidemia induzida pelo Triton e Poloxamer, foi avaliada sua atividade antioxidante por meio das dosagens de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH), SOD (superóxido dismutase) e da peroxidação lipídica (MDA) em homogenato de fígado.

Sabe-se que em condições de estresse oxidativo, os produtos formados tem a capacidade de interagir com uma grande diversidade de moléculas, sendo a membrana celular um dos seus principais alvos. Quando as EROS reagem com os ácidos graxos poli-insaturados da membrana e lipoproteínas, tem-se início a reação em cadeia de peroxidação lipídica (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

O malondialdeído (MDA) é o principal e mais estudado produto da peroxidação lipídica e tem sido descrito como um importante indicador de injúria à membrana celular

(DEL RIO; STEWART; PELLEGRINI, 2005). Para mensurá-lo foi avaliado o TBARS, onde o ácido tiobarbitúrico reage com produtos da peroxidação lipídica, sendo o principal deles o MDA.

A indução de dislipidemia pelo triton promoveu um aumento nos níveis de TBARS e a administração de ácido cafeico reduziu significativamente a peroxidação lipídica provocada pela dislipidemia no tecido hepático. Todas as doses utilizadas de ácido cafeico (25, 50 e 100 mg/Kg) foram efetivas, protegendo o fígado dos efeitos da peroxidação.

Jayanthi e Subash (2010) ao investigarem o possível efeito protetor do ácido caféico (40mg/Kg) no modelo contra a hepatotoxicidade induzida por oxitetraciclina (OXT) em ratos Albino Wistar, encontraram resultados semelhantes ao presente estudo. De modo que o tratamento com ácido cafeico ofereceu proteção significativa ao tecido hepático, tendo em vista a diminuição nos níveis de TBARS.

Outro estudo experimental realizado por Kumaram e Prince (2010), em que foram induzidas lesões no tecido cardíaco de ratos por isoproterenol (ISO), também confirmou o efeito protetor do ácido cafeico ao eliminar os produtos de peroxidação lipídica gerados em excesso pelo isoproterenol, protegendo o tecido cardíaco.

Postula-se que o ácido cafeico protege os ratos do estresse oxidativo através da eliminação dos radicais livres (GULCIN et al., 2006), prevenindo assim as possíveis lesões em detrimento da peroxidação lipídica, como as doenças cardiovasculares.

Como primeira linha de defesa do sistema antioxidante do organismo em resposta a geração de EROS, tem-se as enzimas SOD e CAT, com o objetivo de evitar a oxidação de biomoléculas (EL-SHENAWY et al., 2010).

A SOD constitui-se numa enzima capaz de catalisar a conversão do ânion superóxido a peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (KNOW et al., 2009). Níveis elevados desta enzima relacionam-se com aumento da função endotelial em condições de hipercolesterolemia bem como prevenção da produção de espécies reativas de oxigênio decorrentes de hiperglicemia (FARACI; DIDON, 2004) sendo importante, portanto, na prevenção e tratamento da doença aterosclerótica.

O tratamento com ácido cafeico aumentou significativamente os níveis de SOD hepático em todas as doses apenas no protocolo de dislipidemia induzida por Poloxamer-407, revertendo o dano que foi causado no fígado. Tal fato não foi observado no modelo de dislipidemia causada pelo Triton, não havendo alterações significativas nos níveis de SOD entre todos os grupos avaliados.

No modelo utilizado por Pari e Prasath (2008) em que utilizaram o Níquel (Ni), um importante poluente ambiental, para induzir danos oxidativos no fígado e avaliaram o tratamento com o ácido cafeico nas doses de 15, 30 e 60 mg/Kg foram encontrados resultados semelhantes ao achado em nosso estudo. Observou-se aumento da enzima antioxidante SOD, sugerindo que a eliminação de EROS pode ser devido à sua eficaz atividade antioxidante. Outro possível mecanismo que pode contribuir para o papel protetor do ácido cafeico é a sua capacidade quelante de metal que, por sua vez, pode reduzir a carga Ni levando ao aumento da atividade de antioxidantes e diminuição da peroxidação lipídica.

A detoxificação de radicais livres citotóxicos parece ocorrer pela ligação com a Glutathione, o maior componente endógeno do “pool” dos NP-SH (PARK ET AL., 2000; OLIVEIRA et al., 2004). Existem dois mecanismos pelos quais a glutathione exerce seu efeito antioxidante, podendo agir por remoção direta de radicais livres ou funcionando como um substrato para a glutathione peroxidase que elimina peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos no citosol e mitocôndrias (REED; FARIS, 1984). Desse modo, quando agentes oxidantes estão envolvidos no processo de injúria, composto sulfidrílicos desempenham um importante papel no reparo de danos celulares (SZABO; TRIER; FRANKEL, 1981).

Os resultados mostraram que a dislipidemia induzida por Triton e Poloxamer foi capaz de reduzir os níveis de NP-SH no fígado dos animais, enquanto o tratamento com ácido cafeico na dose de 100 mg/Kg no protocolo do Triton e nas três doses no modelo utilizando Poloxamer, foram capazes de restaurar significativamente os níveis de NP-SH hepático.

Portanto, o ácido cafeico foi capaz de reverter significativamente o estresse oxidativo induzido pela dislipidemia ao restaurar as atividades de SOD, NP-SH e diminuir a peroxidação lipídica, demonstrando uma importante atividade antioxidante.

É crescente as pesquisas envolvendo substâncias oriundas de plantas, frutas e vegetais com atividade hipoglicêmica, uma vez que a DM se caracteriza como um problema de saúde pública e de grande impacto econômico e social. Apesar de mais de 800 plantas serem referidas pelas suas propriedades antidiabéticas, na maioria dos casos há poucas evidências científicas comprovando a eficácia e o mecanismo de ação (RIZVI; MISHRA, 2013). A ação biológica das plantas está relacionada com a composição química dos produtos vegetais. As plantas contem na sua composição compostos fenólicos, alcalóides, flavonóides, terpenóides e glicosídeos, que apresentam efeitos positivos e agem sob diferentes mecanismos de ação (BHUSANet al., 2010).

A DM pertence a um grupo de doenças de etiologia heterogênea, caracterizada por uma hiperglicemia crônica e outras anormalidades metabólicas, devidas ao déficit de insulina. Após um prolongado período de desordens metabólicas, podem surgir complicações tardias específicas devidas à DM como retinopatia, nefropatia e neuropatia (PATEL et al., 2012). Um dos modelos experimentais utilizado para induzir diabetes mellitus em animais é através de uma toxina diabetogênica, o aloxano, que induz hiperglicemia em ratos e camundongos (BELLAHCENet al., 2012).

O aloxano é um análogo citotóxico da glicose que se acumula nas células β pancreáticas via transportador de glicose 2 (GLUT 2). Ele exerce seus efeitos inibindo seletivamente a secreção de insulina induzida pela glicose através inibição da enzima glicoquinase, que leva à redução da oxidação da glicose e formação de ATP, além de atuar formando espécies reativas. Na presença de tióis intracelulares, como a glutathione, o aloxano gera espécies reativas em uma reação redox, formando seu produto de redução, o ácido dialúrico. Este, por meio de reação de auto-oxidação, gera radicais superóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxilas, os quais se acumulam e levam a morte das células β pancreáticas, devido à reduzida concentração de antioxidantes celulares (LENZEN, 2008, BELLAHCENet al., 2011).

No presente trabalho, verificou-se que o aloxano foi capaz de causar diabetes nos camundongos em estudo, com aumento da glicose sanguínea correspondente a 309,9% no grupo controle positivo e o tratamento oral agudo com ácido cafeico reduziu significativamente a glicemia em todas as doses administradas (25, 50 e 100 mg/Kg).

Jung et al. (2006) demonstraram efeito hipoglicemiante do ácido cafeico no protocolo de diabetes induzida por estreptozotocina, o qual foi capaz de reduzir a glicemia em ratos diabéticos, assim como observado no presente estudo. Essa ação hipoglicêmica do ácido cafeico foi provavelmente associada a uma melhoria acentuada na expressão de mRNA de glicoquinase no fígado, uma vez que essa enzima atua sobre a glicose transformando-a em glicose 6-fosfato, a qual será armazenada no fígado na forma de glicogênio.

Um derivado do ácido cafeico, que também tem sido alvo de muitos estudos, ácido cafeico fenetil éster foi analisado quanto a uma possível atividade hipoglicêmica em camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina. De modo que os resultados encontrados por Celika, Erdogan e Tuzcuc (2009) demonstraram que a administração de CAPE reduziu significativamente a glicemia de jejum de ratos diabéticos corroborando com o achado desse estudo.

Além de seu efeito hipoglicemiante, a administração de ácido cafeico também foi capaz de reduzir significativamente os níveis plasmáticos de lipídeos, incluindo colesterol total e triglicérides em camundongos diabéticos.

No estudo realizado por Sreelatha et al (2012), avaliaram-se os efeitos antihiperlipidêmico e hipolipidêmico do extrato de *Coriandrum sativum*, o qual contém compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos, flavonóides, esteróides e taninos, em ratos com diabetes induzida por aloxano. Corroborando com os resultados do presente estudo, observou-se uma redução significativa dos níveis de glicose sanguínea, colesterol total e triglicérides. Vale ressaltar que os níveis de lipídios são geralmente elevados no diabetes mellitus e tal elevação representa um fator de risco para doença arterial coronariana.

A patogênese da dislipidemia no diabetes não é bem compreendida, no entanto sabe-se que as anormalidades no metabolismo dos lipídios podem estar presentes antes mesmo do estabelecimento da hiperglicemia, devido à possível associação com a resistência insulínica. Acredita-se que a resistência insulínica prejudica a capacidade dos adipócitos de armazenar triglicérides e pode levar ao aumento da enzima lipoproteína lipase, que resulta no aumento da liberação de ácidos graxos livres. O maior influxo destes ácidos graxos no fígado na presença de estoques de glicogênio adequados promove a produção de triglicérides, a qual estimula a secreção de apolipoproteína B e LDL (GINSBERG, 1991; WISSE, 2004).

A dislipidemia diabética desempenha um importante papel na resposta imune, predispondo o paciente a um estado hiperinflamatório por modular a função e atividade dos macrófagos, desencadeando a ativação de diversas vias relacionadas à liberação de mediadores oxidativos e inflamatórios e fatores de crescimento que levam a danos em diversos órgãos e tecidos (MOORADIAN, 2009).

Desse modo, acredita-se que o efeito do ácido cafeico na dislipidemia diabética ocorreu devido à sua atuação efetiva na redução na hiperglicemia, uma vez que o controle glicêmico é um dos principais determinantes nas concentrações dos lipídeos plasmáticos (MAKKU, 1995).

De acordo com os resultados demonstrados, verifica-se que ácido cafeico desponta como uma substância com elevado potencial terapêutico no âmbito das doenças relacionadas aos metabolismos glicêmico e lipídico, devendo ser melhor explorada pela comunidade científica na tentativa de elucidar seu possível mecanismo de ação.

7 CONCLUSÃO

O ácido cafeico apresentou atividade hipoglicêmica no modelo experimental de diabetes induzida por aloxano, além de reduzir os níveis séricos de lipídeos, como colesterol total e triglicerídeos.

Demonstrou efeito hipolipidêmico em modelos experimentais agudos de indução de dislipidemia por Triton WR 1339 e Poloxamer 407 ao promover uma diminuição significativa no colesterol total e triglicerídeos plasmáticos.

Além disso, mostrou também importante efeito antioxidante no tecido hepático dos animais submetidos à indução de dislipidemia ao aumentar a atividade de enzimas como a SOD, reestabelecer os níveis de NP-SH, bem como de reduzir a peroxidação lipídica. Tal atividade antioxidante relaciona-se com seus efeitos benéficos de proteção aos danos celulares decorrentes da produção de radicais livres, como as doenças cardiovasculares.

Desse modo, o ácido cafeico apresentou resultados que o classificam como uma substância com potencial terapêutico para tratar doenças como o diabetes e as dislipidemias. No entanto, são necessários mais estudos de forma crônica que possam garantir a segurança e eficácia de sua utilização como uma estratégia terapêutica no manejo de tais doenças.

REFERÊNCIAS

- ABADI, B. L.; BUDEL, J. M. Aspectos Clínicos Laboratoriais das Dislipidemias. **Cadernos da Escola de Saúde**, Curitiba, v. 1, n. 5, p. 158-169, 2011.
- ABDALLA, D. S. P. Estresse Oxidativo e Alimentação. In: TIRAPEGUI, J. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: [s.n], 2006. v. 2, p. 181-197.
- ADA. Standards of medical care in diabetes--2011. **Diabetes Care**, v. 34, Suppl. 1, p. S11-61, 2011.
- AGAR, E.; BOSNAK, M.; AMANVERMEZ, R.; DEMIR, S.; AYYILDIZ, M.; CELIK, C. The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of Rat. **Neuroreport**, v.10, p. 1799-1801, 1999.
- ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Res. Int.**, v. 41, p. 1-15, 2008.
- AL-MANSOUB, M. A.; ASMAWI, M. Z.; MURUGAIYAH, V. Effect of extraction solvents and plant parts used on the antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Garcinia atroviridis*: a comparative study. **J. Sci. Food. Agric.**, 2013.
- 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.
- ANANDHI, R.; ANNADURAI, T.; ANITHA, T. S.; MURALIDHARAN, A. R.; NAJMUNNISHA, K.; NACHIAPPAN, V.; THOMAS, P. A., GERALDINE, P. Antihypercholesterolemic and antioxidative effects of an extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, and its major constituent, chrysin, in Triton WR-1339-induced hypercholesterolemic rats. **J. Physiol. Biochem.**, v. 69, n. 2, p. 313-323, 2013.
- ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutat. Res.**, v. 350, p. 103-108, 2000.
- ANDREASEN, M. F.; KROON, P. A.; WILLIAMSON, G.; GARCIA-CONESA, M. T. Esterase activity able to hydrolyse dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 49, p. 5679-5684, 2001.
- ARRUDA FILHO, A. C. V. **Avaliação do potencial terapêutico de ésteres do ácido cinâmico isolados da cera da carnaúba no tratamento das dislipidemias**. 2011. 150f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- ASHCROFT, F. M.; RORSMAN, P. Diabetes Mellitus and the β Cell: The Last Ten Years. **Rev. Cell**, v. 148, Mar. 2012.

- AUGUSTO, O. **Radicais livres bons, maus e naturais**. 1. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2006.
- AVIRAM, M.; KENT, U. M.; HOLLENBERG, P. F. Microsomal cytochromes P450 catalyze the oxidation of low density lipoprotein. **Atherosclerosis**, v. 143, n. 2, p. 253-260, 1999.
- BADIMON, L.; VILAHUR, G. LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1254, p. 18-32, Apr. 2012.
- BAIGENT, C.; LANDRAY, M. J.; REITH, C.; EMBERSON, J.; WHEELER, D. C.; TOMSON, C., et al. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 377, p. 2181-2192, June 2011.
- BALLARD, K. D.; QUANNA, E. E.; KUPCHAKA, E. R.; VOLKA, B. M.; KAWIECKI, D. M.; FERNANDEZ, M. L.; SEIP, R. L.; MARESHA, C. M.; KRAEMER, W. J.; VOLEK, J. S. Dietary carbohydrate restriction improves insulin sensitivity, blood pressure, microvascular function, and cellular adhesion markers in individuals taking statins. **Nutr.Res.**, v. 3, p. 905-912, 2013.
- BANDEALI, S.; FARMER, J. High-density lipoprotein and atherosclerosis: the role of antioxidant activity. **Curr.Atheroscler.Rep.**, v. 14, p. 101-107, 2012.
- BARNETT, A. DPP-4 inhibitors and their potential role in the management of type 2 diabetes. **Int. J. Clin. Pract.**, v. 60, n.11, p. 1454-1470, Nov. 2006.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Quím. Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím.Nova**, v. 29, n.1, p. 113-123, 2006.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal.Biochem.**, v. 44 , p. 276-287, 1971.
- BELLAHCEN, S.; MEKHFI, H.; ZIYYAT, A.; LEGSSYER, A.; HAKKOU, A.; AZIZ, M.; BNOUHAM, M. Prevention of Chemically Induced Diabetes Mellitus in Experimental Animals by Virgin Argan Oil. **Phytother.Res.**, v. 26, p. 180-185, 2012.
- BETTERIDGE, D. J. What is oxidative stress? **Metabolism**, Philadelphia, v. 49, n. 2, p. 3-8, 2000.
- BHUSAN, M. S.; RAO, C. V.; OJHA, S. K.; VIJAYAKUMAR, M.; VERMA, A. An analytical review of plants for antidiabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of Action. **Int. J. Pharm. Sci. Res.**, v. 1, p. 29-46 , 2010.
- BLICKLÉ, J. F. Meglitinide analogues: a review of clinical data focused on recent trials. **Diabetes Metab.**, v .32, p. 113-120, Apr. 2006.

- BODEN, W. E.; PROBSTFIELD, J. L.; ANDERSON, T.; CHAITMAN, B. R.; DESVIGNES-NICKENS, P.; KOPROWICZ, K. et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 365, p. 2255-2267, 2011.
- BRUCE, T.; CASTRO, A.; KRUGER, R.; THOMPSON, C. C.; THOMPSON, F. L. Microbial diversity of Brazilian Biomes. In: NELSON, K. E.; NELSON, B. J. (Ed.). **Genomics applications for the developing world**. [S.l.]: Springer, 2012. p. 217-247.
- BULDUK, B.; TAKTAK, F. Isolation and characterization of antitumor alkaloids from poppy capsules (*Papaver somniferum*). **J. Chem.**, v. 2013, p. 1-4, 2013.
- BURNEIK, R. C.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; RODRIGUES, H. G.; EBAID G. M.; FAINE, L. A. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. **Food Chem. Toxicol.**, v. 44, p. 1167-1172, 2006.
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). The medicinal use of herbal drugs. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, p. 179-189, 2000.
- CARDOSO, A. P. Z.; NOGUEIRA, M. S.; HAYASHIDA, M.; SOUZA, L.; CESARINO, E. J. Aspectos clínicos e socioeconômicos das dislipidemias em portadores de doenças cardiovasculares. **Rev. Saúde Coletiva**, v. 21, n. 2, p. 417-436, 2011.
- CELIKA, S.; ERDOGAN, B. S.; TUZCUC, M. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) exhibits significant potential as an antidiabetic and liver-protective agent in streptozotocin-induced diabetic rats. **Pharmacol. Res.**, v. 60, p. 270-276, 2009.
- CHALAS, J.; CLAISE, C.; EDEAS, M.; MESSAOUDI, C.; VERGNES, L.; ABELLA, A.; LINDENBAUM, A. Effect of ethyl esterification of phenolic acids on low-density lipoprotein oxidation. **Biomed. Pharmacother.**, v. 55, n. 1, p. 54-60, Aug. 2001.
- CHAUDHARY, H. R.; BROCKS, D. R. The Single Dose Poloxamer 407 Model of Hyperlipidemia; Systemic Effects on Lipids Assessed Using Pharmacokinetic Methods, and its Effects on Adipokines. **J. Pharm. Pharmaceut. Sci.**, v. 16, n. 1, p. 65-73, 2013.
- CHEN, J.; LI, X. Hypolipidemic effect of flavonoids from mulberry leaves in triton WR-1339 induced hyperlipidemic mice. **Asia Pac. J. Clin. Nutr.**, v. 16, p. 290-294, 2007.
- CHENG, J. T.; LIU, I. M.; TZENG, T. F.; CHEN, W. C.; HAYAKAWA, S.; YAMAMOTO, T. Release of beta-endorphin by caffeic acid to lower plasma glucose in streptozotocin induced diabetic rats. **Horm. Metab. Res.**, v. 35, p. 251-258, 2003.
- CHINIWALA, N.; JABBOUR, S. Management of diabetes mellitus in the elderly. **Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.**, v. 18, n. 2, p. 148-152, Apr. 2011.
- COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia

Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Rev. Virtual Quim.**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochim.Biophys.Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, v.15, p. 7313-7352, 2010.

DAHECHA, I.; HARRABIA, B.; HAMDENB, K.; FEKIB, A.; MEJDOUBA, H.; BELGHITHC, H.; BELGHITHA, K. S. Antioxidant effect of nondigestible levan and its impact on cardiovascular disease and atherosclerosis. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 58, p. 281–286, July 2013.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Ann. Inst. Super. Sanita**, v. 43, p. 348-361, 2007.

DA SILVA, S. M. C. S. **Tratado de alimentação, nutrição & dietoterapia**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.

DEL RIO, D.; MATEOS, A.R.; SPENCER, J. P. E.; TOGNOLINI, M.; BORGES, G.; CROZIER A. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxid. Redox Signal.**, v.18, n. 14, p. 1818-1892, 2013.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v. 15, p. 316-328, 2005.

DUKE, J. A. Utilization of papaver. **Econ.Bot.**, v. 27, n. 4, p. 390-391, 1973.

EL-SHENAWAVY, N. S.; EL-SALMY, F.; AL-EISA, R. A.; EL-AHMARY, B. Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. **Pestic. Biochem. Phys.**, v. 96, p. 101-107, 2010.

ENGELGAU, M. M.; GEISS, L. S.; SAADDINE, J. B.; BOYLE, J. P.; BENJAMIN, S. M.; GREGG, E. W.; et al. The evolving diabetes burden in the United States. **Ann. Intern. Med.**, v. 140, p. 945-950, 2004.

ESPINOSA, J.J.R.; RIOS, M.Y.; MARTÍNEZ, S.L.; VALLEJO, F.L.; FRANCO, J.L.M.; PAOLI, P.; CAMICI, G.; VAZQUEZ, G.N.; ANDRADE, R.O.; SOTO, S.E. Antidiabetic activity of some pentacyclic acid triterpenoids, role of PTP-1B: In vitro, in silico, and in vivo approaches. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 46, p. 2243-2251, 2011.

EU, C. H. A.; LIM, W. Y. A.; TON, S. H.; KADIR, K. A. Glycyrrhizic acid improved lipoprotein lipase expression, insulin sensitivity, serum lipid and lipid deposition in high-fat diet-induced obese rats. **Lipids Health Dis.**, v. 9, p. 81, 2010.

FARACI, F. M.; DIDON, S. P. Vascular Protection: superoxide dismutase isoforms in vessel wall. **Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.**, v. 24, p.1367-1373, 2004.

FARZADFAR, F.; FINUCANE, M. M.; DANAEI, G.; PELIZZARI, P. M.; COWAN, M. J.; PACIOREK, C. J.; et al. National, regional, and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 321 country-years and 3.0 million participants. **Lancet**, v. 337, n. 9765, p. 578–586, 2011.

FERNANDES, A.; FERNANDES, I.; CRUZ, L.; MATEUS, N.; CABRAL, M.; FREITAS, V. Antioxidant and Biological Properties of Bioactive Phenolic Compounds from *Quercus suber* L. **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, p. 11154-11160, Apr. 2009.

FERNANDES, A.S.F. **Propriedades nutricionais, nutracêuticas e antioxidantes de espécies silvestres condimentares utilizadas na gastronomia tradicional do nordeste transmontano.** 2010. 52p. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2010.

FERREIRA, S. H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil.** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998.

FERREIRA, J. M. **Avaliação do potencial terapêutico e da toxicidade das sementes de *Bixa orellana* L. no tratamento de dislipidemias.** 179 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

FERRERES, F.; FIGUEIREDO, R.; BETTENCOURT, S.; CARQUEIJEIRO, I.; JULIANA, O.; GIL-IZQUIERDO, A.; PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; DUARTE, P.; BARCELO, A. R.; SOTTOMAYOR, M. Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an H₂O₂ affair? **J. Exp. Bot.**, v. 62, n. 8, p. 2841-2854, Feb. 2011.

FOWLER, M. J. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. **Clin.Diabetes**, v. 29, n. 3, p. 116-122, 2011.

FRESCO, P.; BORGES, F.; MARQUES, M. P.; DINIZ, C. The anticancer properties of dietary polyphenols and its relation with apoptosis. **Curr.Pharm. Des.**, v. 16, n. 1, p. 1114-1134, 2010.

FRESCURA, V. D. S. **Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae).** 2012. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

FRIEDMAN, M.; BAYER, S. O. The mechanism underlying hypocholesterolemia induced by Triton WR-1339. **Am.Med. J. Physiol.**, v. 190, p. 439-445, 1957.

FUHLENDORFF, J.; RORSMAN, P.; KOFOD, H.; BRAND, C. L.; ROLIN, B.; MACKAY, P. et al. Stimulation of insulin release by repaglinide and glibenclamide involves both common and distinct processes. **Diabetes**, v. 47, n. 3, p. 345-351, Mar. 1998.

GALKINA, E.; LEY, K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (*). **Annu. Rev. Immunol.**, v. 27, p.165-197, 2007.

GARCIA-ROVES, P. M. Mitochondrial pathophysiology and type 2 diabetes mellitus. **Arch. Physiol. Biochem.**, v. 117, n. 3, p.177-187, July 2011.

GAVRILOVA, V.; KAJDZANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M.; Separation, Characterization and Quantification of Phenolic Compounds in Blueberries and Red and Black Currants by HPLC_DAD_ESI-MSn. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, n. 1, p. 4009–4018, Mar. 2011.

GINSBERG, H. N. Lipoprotein physiology in nondiabetic and diabetic states. Relationship to atherogenesis. **Diabetes Care**, v. 14, p. 839-855, 1991.

GINSBERG, H. N.; ELAM, M. B.; LOVATO, L. C.; CROUSE, J. R.; LEITER, L. A.; LINZ, P.; et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. **N. Engl. J. Med.**, p. 362, n. 17, p. 1563-1574, 2010.

GÓMEZ-RUIZ, J. A.; LEAKE, D. S.; AMES, J. M. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 6962–6969, 2007.

GONÇALVES, M. C. R.; MOURA, L. S. A.; RABELO, L. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CRUZ, H. M. M.; CRUZ, J. Natural products inhibitors of HMG CoA reductase. **Rev. Bras. Farm.**, v. 81, p. 63-71, 2000.

GOWDY, K. M.; FESSLER, M. B. Emerging roles for cholesterol and lipoproteins in lung disease. **Pulm. Pharmacol. Ther.**, v. 26, n. 4, p.430-437, 2012.

GUARIGUATA, L.; WHITING, D. R.; BEAGLEY, J.; LINNENKAMP, U.; HAMBLETON, I.; CHO, N. H.; et al. Global estimates of diabetes prevalence in adults for 2013 and projections for 2035 for the IDF Diabetes Atlas. **Diabetes Res. Clin Pract.**, v. 1, 2013.

GULCIN, I. Antioxidant activity of caffeic acid. **Toxicology**, v. 217, p. 213–220, 2006.

GUPTA, R.; WALUNJ, S. S.; TOKALA, R. K.; PARSA, K. V.; SINGH, S. K.; PAL, M. Emerging drug candidates of dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitor class for the treatment of Type 2 Diabetes. **Curr. Drug Targets**, v. 10, n. 1, p. 71-87, 2009.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Review. **Mol. Aspects Med.**, v. 27, p. 1-93, 2006.

HALL, J. A.; GRADIN, J. L.; ANDREASEN, C. B.; WANDER, R. C. Use of a nonionic detergent (Triton WR1339) in healthy cats to assess hepatic secretion of triglyceride. **Am. J. Vet. Res.**, v. 61, n. 8, p. 941-950, 2000.

HALLIWELL, B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? **Cardiovasc. Res.**, v. 18, n. 47, p. 410-418, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2nd ed. Oxford: Clarendon, 1989.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2000.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4th ed. Oxford: Oxford University Press, 2007.

HE, X.; LIU, R. H. Phytochemicals of apple peels: isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 9905–9910, 2008.

HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K. B. (Ed.). **Functional metabolism: regulation and adaptation**. [S.l.: s.n.], 2004.v.13, p. 369-382.

HOLLMAN, P. C.; CASSIDY, A.; COMTE, B.; HEINONEN, M.; RICHELLE, M.; RICHLING, E.; SERAFINI, M.; SCALBERT, A.; SIES, H.; VIDRY, S. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. **J. Nutr.**, v. 141, p. 989-1009, 2011.

HSU, F. L.; CHEN, Y. C.; CHENG, J. T. Caffeic acid as active principle from the fruit of *Xanthium strumarium* to lower plasma glucose in diabetic rats. **Planta Med.**, v. 66, n. 3, p. 228-230, 2000.

HUANG, W.Y.; CAI, Y.Z.; ZHANG, Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. **Nutr.Cancer**, v. 62, n. 1, p. 1-20, 2010.

IGLESIAS, J.; PAZOS, M.; ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. S.; MEDINA, I. Caffeic Acid as Antioxidant in Fish Muscle: Mechanism of Synergism with Endogenous Ascorbic Acid and α -Tocopherol. **J. Agric. Food Chem.**, v.57, p. 675-681, 2009.

JAYANTHI, R.; SUBASH, P. Antioxidant Effect of Caffeic Acid on Oxytetracycline Induced Lipid Peroxidation in Albino Rats. **Ind. J. Clin.Biochem.**, v. 25, n. 4, p. 371–375, 2010.

JESCHKE, M. G.; LOW, J. F.; SPIES, M.; VITA, R.; HAWKINS, H. K.; HERNDON, D. N.; et al. Cell proliferation, apoptosis, NF-kappaB expression, enzyme, protein, and weight changes in liver of burned rats. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 280, n. 6, p. 1314-1320, 2001.

JL, L.L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. **Med. Sci. Sports Exercise**, v. 25, p. 225-231, 1993.

JOHNSTON, T. P.; PALMER, W. K. Mechanism of poloxamer 407-induced hypertriglyceridemia in the rat. **Biochem.Pharmacol.**, v.46, p.1037-1042, 1993.

JOHNSTON, T. P. The P-407-induced murine model of dose-controlled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 43, p.595-606, 2004.

- JUN, M.; FOOTE, C.; NEAL, B.; PATEL, A.; NICHOLLS, S. J.; GROBBEE, D. E.; CASS, A.; CHALMERS, J.; PERKOVIC, V. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Lancet**, v. 375, n. 9729, p. 1875-1884, 2010.
- JUNG, U. J.; LEE, M.K.; PARK, Y. B.; JEON, S. M.; CHOI, M.S. Antihyperglycemic and Antioxidant Properties of Caffeic Acid in db/db Mice. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.318, n. 2, p. 476-83, 2006.
- KARTHIKESAN, K.; PARI, L. Caffeic acid alleviates the increased lipid levels of serum and tissues in alcohol-induced rats. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 22, p. 523–527, 2008.
- KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K.; TANIGUCHI, H.; Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n.7, p. 2161-2168, Feb. 2002.
- KIM, M.; IWAI, K.; MATSUE, H. Phenolic compositions of Viburnum Dilatatum Thunb. fruits and their antiradical properties. **J. Food Composition Anal.**, v.18, n.8, p.789-802, 2005.
- KIM, H. Y.; JEONG, D. M.; JUNG, H. J.; JUNG, Y. J.; YOKOZAWA, T.; CHOI, J. S. Hypolipidemic effects of Sophora flavescens and its constituents in poloxamer 407-induced hyperlipidemic and cholesterol-fed rats. **Biol.Pharm.Bull.**, v. 31, p. 73–78, 2008.
- KIRKMAN, H. N.; GAETANI, G. F. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, v. 81, p. 4343-4348, 1984.
- KIRKMAN, H. N.; ROLFO, M.; FERRARIS, A. M.; GAETANI, G. F. Mechanisms of Protection of Catalase by NADPH. **J. Biol. Chem.**, v. 274, p. 13908–13914, 1999.
- KOROLENKO, T. A.; JOHNSTON, T. P.; DUBROVINA, N. I.; KISAROVA, Y. A.; ZHANAEVA, S. Y.; CHERKANOVA, M. S.; FILJUSHINA, E. E.; ALEXEENKO, T. V.; MACHOVA, E.; ZHUKOVA, N. A. Effect of poloxamer 407 administration on the serum lipids profile, anxiety level and protease activity in the heart and liver of mice. **Interdiscip.Toxicol.**, v. 6, n. 1, p. 18–25, 2013.
- KOSHIHARA, Y.; NEICHI, T.; MUROTA, S. I.; LAO, A. N.; FUJIMOTO, Y.; TATSUNO, T. Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1, p. 92-97, 1984.
- KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev. Nutr.**, v. 16, n. 4, p. 433-441, 2003.
- KOWALSKI, R. Changes of linoleic acid concentration during heating of some plant-origin oils with polyphenol addition. **J. Food Quality**, v. 33, n. 3, p. 269-282, June 2010.
- KUMARAM, K. S.; PRINCE, P. S. M. Protective effect of caffeic acid on cardiac markers and lipid peroxide metabolism in cardiotoxic rats: an in vivo and in vitro study. **Metabolism**, v. 59, n. 8, p. 1172–1180, Aug. 2010.
- KWAK, Y.; KYUNG, J. S.; KIM, J. S.; CHO, J. Y.; RHEE, M. H. Anti-hyperlipidemic

Effects of Red Ginseng Acidic Polysaccharide from Korean Red Ginseng. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 33, n. 3, p. 468-472, 2010.

KWON, M. H.; LEE C. J.; CHO Y. Y.; KANG H. E. Pharmacokinetics of a Cytochrome P450 2E1 Probe, Chlorzoxazone, and its 6-Hydroxy Metabolite in Poloxamer 407-Induced Hyperlipidemic Rats. **Pharm. Pharm. Sci.**, v.16, n. 4, p. 648-656, 2013.

KWON, E. Y.; CHO, Y. Y.; DO, G. M.; KIM, H. J.; JEON, S. M.; PARK, Y. B.; LEE, M. K.; MIN, T. S.; CHOI, M. S. Actions of Ferulic Acid and Vitamin E on Prevention of Hypercholesterolemia and Atherogenic Lesion Formation in Apolipoprotein E-Deficient mice. **J. Med. Food**, v. 12, n. 5, p. 996-1003, 2009.

LAPLANT, M.; FERTUCCIA, W. T.; SOUCY, G.; BLANCHARD, P. G.; RENAUND, A.; BERGER, J. P.; OLIVECRONA, G.; DESHAIES, Y. Tissue-specific postprandial clearance is the major determinant of PPAR α -induced triglyceride lowering in the rat. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.296, p. 57-66, 2009.

LEE, Y. S.; KIM, Y. W.; KIM, S. G.; LEE, I.; LEE, M. G.; KANG, H. E. Effects of poloxamer 407-induced hyperlipidemia on the pharmacokinetics of carbamazepine and its 10,11-epoxide metabolite in rats: Impact of decreased expression of both CYP3A1/2 and microsomal epoxide hydrolase. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 22, p.431-440, 2012.

LEE, W. J; ZHU, B. T. Inhibition of DNA methylation by caffeic acid and chlorogenic acid, two common catechol-containing coffee polyphenols. **Carcinogenesis**, v. 27, p. 269–277, 2006.

LEE, E.; PARK, S-H; KIM, M. S.; HAN, S-Y; KIM, H-S.; KANG, Y-H. Caffeic Acid Disturbs Monocyte Adhesion onto Cultured Endothelial Cells Stimulated by Adipokine Resistin. **J. Agric. Food Chem.**, v. 60, p. 2730–2739, 2012.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes. **Diabetologia**, v. 51, p. 216–226, 2008.

LI, Y.; HAMASAKI, T.; NAKAMICHI, N.; KASHIWAGI, T.; KOMATSU, T.; YE, J.; TERUYA, K.; ABE, M.; YAN, H.; KINJO, T.; KABAYAMA, S.; KAWAMURA, M.; SHIRAHATA, S. Suppressive effects of electrolyzed reduced water on alloxan-induced apoptosis and type 1 diabetes mellitus. **Cytotechnology**, v. 63, p. 119-131, 2011.

LIAO, H. F.; CHEN, Y. Y.; LIU, J.J.; HSU, M. L.; SHIEH, H. J.; LIAO, H.J.; SHIEH, C.J.; SHIAO, M.S.; CHEN, Y.J. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on angiogenesis, tumor invasion, and metastasis. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 7907-7912, 2003.

LIAO, C.; OU, T.; WU, C.; WANG, C. Prevention of Diet-Induced Hyperlipidemia and Obesity by Caffeic Acid in C57BL/6 Mice through Regulation of Hepatic Lipogenesis Gene Expression. **J. Agric. Food Chem.**, v.61, n. 46, p. 11082-11088, 2013.

LUPATTELLI, G.; PIRRO, M.; SIEPI, D.; MANNARINO, M. R.; ROSCINI, A. R.; VAUDO, G.; et al. Non-cholesterol sterols in different forms of primary hyperlipemias. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v. 22, n. 3, p. 231-236, 2012.

LUSIS, A.J. Atherosclerosis. **Nature**, v. 407, p. 233–241, 2000.

LYUBENOVA, L.; NEHNEVAJOVA, E.; HERZIG, R.; SCHRÖDER, P. Response of antioxidant enzymes in *Nicotiana tabacum* clones during phytoextraction of heavy metals. **Environ. Sci. Polut. Res. Int.**, v. 16, n.5, p. 573-581, 2009.

MAKKU, L. Epidemiology of diabetic dyslipidemia. **Diabetes Rev.**, v. 3, p. 408-422, 1995.

MANCINI, D. A. P.; MANCINI-FILHO, J. Prevenção de reações oxidativas: antioxidantes nos vegetais de consumo humano. In: DE ANGELIS, R. C. (Ed.). **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. cap. 36, p. 206-214.

Disponível em:

<http://www.oleosegorduras.org.br/imagens/file/Prevencao_reacoes_oxidativas_antioxidantes_vegetais.pdf>. Acesso em: 05 dez. 2013.

MANDUKHAIL, S. U.; AZIZ, N.; GILANI, A. H. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. **Lipids Health Dis.**, v. 9, p.88, 2010.

MARIOD, B. A.; IBRAHIM, R. M.; ISMAIL, M.; ISMAIL, N. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. **Food Chem.**, v. 118, p.120–127, 2009.

MARQUES, S.P. Terapêutica redutora intensiva do colesterol: a certeza da segurança. **Rev. Port. Cardiol.**, v. 29, n. 9, p. 1405-1418, 2010.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1995.

MARTINS, M. M. R. **Influência da atividade física e do ambiente sobre os níveis de glutathione peroxidase e perfil lipídico em grupo de terceira idade**. 2007.

Dissertação(Mestrado) -Centro Universitário Feevale,Novo Hamburgo, 2007.

MCBRIDE, P. Triglycerides and risk for coronary artery disease. **Curr. Atheroscler. Rep.**, v. 10, n. 5, p. 386-390, 2008.

MELLENDEZ-RAMIREZ, L. Y.; RICHARDS, R.; CEFALU, W.T. Complications of type 1Diabetes. **Endocrinol. Metab. Clin. North Am**, v. 39, p. 625-640, 2010.

MESQUITA, A. K. F.; MACHADO, K. C.; NUNES, L. C. C.; MORAES, J.; FREITAS, R. M. Estudo prospectivo tecnológico e científico do potencial anti-schistosoma mansonii da cumarina e do ácido o-hidroxicinâmico. **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 3, p. 386-397, 2013.

MILLAR, J. S.; CROMLEY, D. A.; MCCOY, M. G., RADER, D. J.; BILLHEIMER, J. T. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. **J. Lipid Res.**, v. 46, n. 9, p. 2023-2028, 2005.

MOORADIAN, A.D. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. **Nat. Clin.Pract. Endocrinol.Metab.**,v. 5, p. 150-159, 2009.

NARDINI, M.; SCACCINI, C.; PACKER, L.; VIRGILI, F. In vitro inhibition on the activity of phosphorylase kinase, protein kinase C and protein kinase A by caffeic acid and a procyanidin rich pine bark (*Pinus maritima*) extract. **Biochim.Biophys.Acta**, v. 1474, p. 219-225, 2000.

NATARAJAN, K.; SINGH, S.; BURKE, T. R.; GRUNBEGER, D.; AGGARWAL, B. B. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- κ B. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.93, p. 9090–9095, 1996.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years over the 30 Years from 1981 to 2010. **J. Nat. Prod.**,v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

NOLAN, C. J.; DAMN, P.; PRENTKI, M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. **Lancet**, v. 378, n. 9786, p. 169-181, 2011.

OKUTAN, H.; OZCELIK, N.; YILMAZ, H. R.; UZB, E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. **Clin. Biochem.**, v.38, p. 191-196, 2005.

OLIVEIRA, F. A.; LIMA JÚNIOR, R. C. P.; SILVA, R. M. D. A.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacol. Res.**, v. 49, n. 2, p. 105-111, 2004.

OLOKOBA, A. B.; L. B. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. **Oman Med. J.**, v. 27, n. 1, p. 269-273, 2012.

O'SHEA, M.; TEELING, M.; BENNETT, K. The prevalence and ingredient cost of chronic comorbidity in the Irish elderly population with medication treated type 2 diabetes: a retrospective cross sectional study using a national pharmacy claims database. **BMC Health Serv.Res.**, v. 13,p. 23, 2013.

OULMOUSEN, F.; SAILE, R.; GNAOUI, N.E.; BENOMAR, H.; LKHIDER, M.; AMRANI, S.; GHALIM, N. Hypolipidemic and Anti-Atherogenic Effect of Aqueous Extract of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Extract in an Experimental Model of Atherosclerosis Induced by Triton WR-1339. **Eur. J. Sci. Res.**, v. 52, n. 1, p.91-99, 2011.

PAN, L.; HEEBYUNG, C.; KINGHORN, A.D. The continuing search for antitumor agents from higher plants. **Phytochem.Lett.**,v. 3, n. 1, p. 1-8, 2010.

PARI, L.; PRASATH, A. Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. **Chem. Biol. Interact.**, v. 173, n. 2, p. 77-83, 2008.

PARK, S. H.; MIN, T. S. Caffeic acid phenethyl ester ameliorates changes in IGFs secretion and gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sci.**, v. 78, p. 1741–1747, 2006.

PARK, H.; SHIMA, T.; YAMAGUCHI, K.; MITSUYOSHI, H.; MINAMI, M.; YASUI, K.; et al. Efficacy of long-term ezetimibe therapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease. **J. Gastroenterol.**, v.46, n. 1, p. 101-107, 2011.

PARK, J. S.; CHOI, M. A.; KIM, B. S.; HAN, I. S. KURATA, T.; YU, R. Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats. **Life Sci.**, v. 67, n. 25, p. 3087-3093, 2000.

PATEL, D.; KUMAR, R.; LALOO, D.; HEMALATHA, S. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. **Asian Pac. J. Trop. Dis.**, v. 2, n. 3, p. 239-250, 2012.

PATIL, U.K.; SARAF, S.; DIXIT, V.K. Hypolipidemic activity of seeds of *Cassia tora* Linn. **J. Ethnopharmacol.**, v.90, n. 2/3, p. 249-252, 2004.

PEREIRA, A.L.F.; VIDAL, T.F.; CONSTANT, P.B.L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. **Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alimento e Nutrição**, v. 34, n.3, p. 231-247, dez. 2009.

PIRRO, M.; BAGAGLIA, F.; PAOLETTI, L.; RAZZI, R.; MANNARINO, M. R. Hypercholesterolemia-associated endothelial progenitor cell dysfunction. **Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.**, v. 2, n. 5, p. 329-339, 2008.

POMPILHO, W. M.; BORGES, F. V.; MIGUEL, E. C. Biotecnologia e biodiversidade: as florestas brasileiras como fonte de novos fármacos com propriedades antitumorais. **AS&T**, v. 1, n. 1, fev. 2013.

PRATLEY, R. E.; SALSALI, A. Inhibition of DPP-4: a new therapeutic approach for the treatment of type 2 diabetes. **Curr. Med. Res. Opin.**, v. 23, n. 4, p. 919-931, 2007.

RAY, A.; HUISMAN, M. V.; TAMSMA, J. T.; VAN, A. J.; BINGEN, B. O.; BROEDERS, E. A. et al. The role of inflammation on atherosclerosis, intermediate and clinical cardiovascular endpoints in type 2 diabetes mellitus. **Eur. J. Intern. Med.**, v. 20, n. 3, p. 253-260, 2009.

REED, D. J.; FARISS, M. W. Glutathione depletion and susceptibility. **Pharmacol. Rev.**, v. 36, p. 25, 1984.

REINKE, R. A.; KING, P. J.; VICTORIA, J. G.; MCDUGALL, B. R.; MA, G.; MAO, Y.; REINECKE, M.G.; ROBISON JUNIOR, W. E. Dicafeoyltartaric Acid Analogues Inhibit Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Integrase and HIV-1 Replication at Nontoxic Concentrations. **J. Med. Chem.**, v. 45, n. 17, p. 3669-3683, July 2002.

REIS, C. N.; FREITAS, W. R.; VENTURA, T. L. B.; KANASHIRO, M. M.; MUZITANO, M. F.; OLIVEIRA, D. B. Inibição da Produção de Óxido Nítrico e Efeito Citotóxico de Extrato Aquoso de *Annona muricata* L. **Perspectivas Online Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 2, p. 1- 8, 2011.

RIAHI, S.; GANJALI, M. R.; KHAJEHSHARIFI, H.; NOROUZI, P.; TAGHIPOOR, S. Theoretical and Experimental Studies on Some Anticancer derivatives: Electrochemical investigation. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 4, n. 1, 122 -133, 2009.

RIZVI, S.; MISHRA, N. Traditional Indian Medicines Used for the Management of Diabetes Mellitus. **J. Diabetes Res.**, 2013.

RIZZO, M.; KOTUR-STEVLJEVIC, J.; BERNEIS, K.; SPINAS, G.; RINI, G. B.; JELIC-IVANOVIC, Z.; SPASOJEVIC-KALIMANOVSKA, V.; VEKIC. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. **Transl. Res.**, v. 153, n. 5, p. 217-223, 2013.

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, n. 10, p. 2866- 2887, Apr. 2003.

ROCHA, J. T. **Atividade hipolipidêmica do disseleneto de difenila na hiperlipidemia induzida por triton WR-1339 em camundongos.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

ROJKIND, M.; DOMÍNGUEZ-ROSALES, J.; NIETO, N.; GREENWEL, P. Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. **Cell Mol. Life Sci.**, v. 59, n. 11, p. 1872-1891, 2002.

ROVER, J. L.; HOEHR, N. F.; KUBOTA, A. P. V. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quim.Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: phoretical mobility shift assay, *Brain Res. Protoc.* 2 (1998) 242– role of caffeic acid phenethyl ester and galangin, **Fitoterapia**, v. 73, n. 249, p. 21–29, 2002.

SAHEBKAR, A. A. Systematic Review and Meta-Analysis of the Effects of Pycnogenol on Plasma Lipids. **J. Cardiovasc.Pharmacol.Ther.**,v. 19, n. 3, p. 244-255, dez. 2014.

SAINI, H. K.; XU, Y-J.; ARNEJA, A. S.; TAPPIA, P. S.; DHALLA, N. S. Pharmacological basis of different targets for the treatment of atherosclerosis. **J. Cell. Mol. Med.**, v.9, n.4, p. 818-839, 2005.

SANGWAN, A.; TEWARI, S.; SINGH, H.; SHARMA, R. K.; NARULA, S. C. The Association between Psoriasis and Dyslipidemia: A Systematic Review. **J. Periodontol.**, v. 84, n. 1, p. 3-12, 2013.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; MAGNONI, C. D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A. M. et al. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 100, n. 1, p. 1-40, 2013.

SASHIDHARA, K. V.; PALNATI, G. R.; SONKAR, R.; AVULA, S. R.; AWASTHI, C.; BHATIA, G. Coumarin chalcone fibrates: A new structural class of lipid lowering agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 64, p. 422–431, June 2013.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; REME, S. Y. C. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. **Food Sci. Nutr.**, v. 45, p. 287-306, 2005.

SCHEEN, A. J. Drug interactions of clinical importance with antihyperglycaemic agents: an update. **Drug Saf.**, v.28, n. 7, p. 601-631, 2005.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v.10, p. 308-313, 2004.

SHAMI, N. J. I.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev. Nutr.**, v. 17, p. 227-236, 2004.

SHAW, J. E.; SICREE, R. A.; ZIMMET, P. Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes Res. Clin.Pract.**, v. 87, n. 1, p. 4-14, 2010.

SHRIVASTAVA, A.; CHATURVEDI, U.; SONKAR, R.; KHANNA, A. K.; SAXENA, J. K. Antidyslipidemic, Antiatherogenic and Antioxidant Activity of Allium Sativum. **Int. J. Curr.Pharm. Rev. Res.**, v. 2, n. 2, p. 110–119, 2011.

SHRIVASTAVA, A.; CHATURVEDI, U., VARDAN, S. S.; SAXENA, J. K.; BHATIA G. Lipid Lowering and Antioxidant Effect of Miglitol in Triton Treated Hyperlipidemic and High Fat Diet Induced Obese Rats. **Lipids**, v. 48, p. 597–607, 2013.

SIASOS, G.; TOUSOULIS, D.; OIKONOMOU, E.; ZAROMITIDOU, M.; STEFANADIS, C.; PAPAVALASSIOU, A. G. Inflammatory Markers in Hyperlipidemia: From Experimental Models to Clinical Practice. **Curr. Pharm. Des.**, v. 17, n. 37, p. 4132-4146, 2011.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, 2004.

SOARES, A. L.; SOUSA, M. O.; FERNANDES, A. P. S. M.; CARVALHO, M. G. Alterações do sistema hemostático nos pacientes com diabetes melito tipo 2. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 32, n. 6, p. 482-488, ago. 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, n.1, p. 2-19, 2007.

SPADA, P.D.S.; DE SOUZA, G. G.; BORTOLINI, G. V.; HENRIQUES, J. A.; SALVADOR, M. Antioxidant, mutagenic and antimutagenic activity of frozen fruits. **J. Med. Food**, v.11, p.144-151, 2008.

SPOSITO, A. C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F. H.; BERTOLAMI, M. C.; et al. IV Brazilian guideline for dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Department of atherosclerosis of brazilian society of cardiology. **Arq.Bras.Cardiol.**, v. 88, n. 1, p. 2-19, Abr. 2007.

SREELATHA, S.; INBAVALLI, R. Antioxidant, Antihyperglycemic, and Antihyperlipidemic Effects of Coriandrum sativum Leaf and Stem in Alloxan-Induced Diabetic Rats. **J. Food Sci.**, v. 77, n. 7, p. 119-123, 2012

- STONEHOUSE, A. H.; DARSOW, T.; MAGGS, D. G. Incretin-based therapies. **J. Diabetes**, v. 4, n. 1, p. 55-67, 2011.
- STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; Van HAEFTEN, T. W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. **Lancet**, v. 365, n. 9467, p. 1333-1346, 2005.
- SUD'INA, G.F.; MIRZOEVA, N. V.; PUSHKAREVA, M. A.; KORSHUNOVA, G. A.; SUMBATYAN, N. V.; VAFOLOMEEV, S. D. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. **Feder.Eur. Biochem. Soc.**, v. 329, p. 21-24, 1993.
- SUN WATERHOUSE, D.; THAKORLAL, J.; ZHOU, J. Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oils. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 46, n. 8, p. 1575-1585, Aug. 2011.
- SURAMPUDI, P. N.; JOHN-KALARICKAL, J.; FONSECA, V. A. Emerging Concepts in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. **Mt Sinai J. Med.**, v. 76, p. 216-226, 2009.
- SZABO, S.; TRIER J. S.; FRANKEL, P. W. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. **Science**, v. 214, p. 200-202, 1981.
- SZKUDELSKI, T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. **Physiol. Res.**, v. 50, p. 536-546, 2001.
- TAPIERO, H.; TEW, K. D.; NGUYEN BA, G.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomed.Pharmacother.**, v. 56, p. 200-207, 2002.
- TEIXEIRA, C. C.; FUCHS, F. D. The efficacy of herbal medicines in clinical models: The case of jambolan. **J. Ethnopharmacol.**, v. 108, p.16–19, 2006.
- THOMPSON, P. D.; CLARKSON, P. M.; ROSENSON, R. S. National Lipid Association Statin Safety Task Force Muscle Safety Expert Panel. An assessment of statin safety by muscle experts. **Am. J. Cardiol.**, v.97, n. 8A, p. 69-76, 2006.
- TOUAIBIA, M.; JEAN-FRANCOIS, J.; DOIRON, J. Caffeic Acid, a versatile pharmacophore: an overview. **Med. Chem.**, v. 11, p. 695–713, 2011.
- VAKIL, R. J. *Rauwolfia serpentina* in the treatment of high blood pressure: A review of the literature. **Circulation**, v. 12, p. 220-229, 1955.
- VASCONCELOS, T. H. C.; MODESTO- FILHO, J. M.; DINIZ, M. F. F. M.; SANTOS, H. B.; AGUIAR, F. B.; MOREIRA, P. V. L. Estudo toxicológico pré-clínico agudo com o extrato hidroalcoólicodas folhas de *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae). **Rev.Bras. Pharmacogn.**, v.17, n.4, p. 583-591, 2007.
- VATTEM, D.A.; LIN, Y-T.; SHETTY, K. Enrichment of phenolic antioxidants and anti-Helicobacter pylori properties of cranberry pomace by solid-state bioprocessing. **Food Biotechnol.**, v. 19, p. 51-68, 2005.

VIANA, M. R., RODRIGUEZ, T. T. Cardiovascular and renal complications in diabetes mellitus. **Rev. Cienc. Med. Biol.**, v.10, n.3, p.290-296, 2011.

VIJAYARAJ, P.; MUTHUKUMAR, K.; SABARIRAJAN, J.; NACHIAPPAN, V. Antihyperlipidemic activity of *Cassia auriculata* flowers in triton WR 1339 induced hyperlipidemic rats. **Exp. Toxicol.Pathol.**, v. 65, n. 1, p.135–141, 2011.

VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **DiabetesObes.Metab.**, v.9, p. 813-839, 2007.

WANI, M. C.; TAYLOR, H. L.; WALL, M. E.; COGGON, P.; MCPHAIL, A. T. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxusbrevifolia*. **J. Amer. Chem. Soc.**, v. 93, p. 2325-2327, 1971.

WEI, H. A.; LIAN, T. W.; TU, Y. C.; HONG, J. T.; KOU, M. C.; WU, M. J. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation and oxidative burst in polymorphonuclear neutrophils by caffeic acid and hispidin derivatives isolated from sword brake fern (*Pteris ensiformis* Burm.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 10579–10584, 2007.

WILCOX, B. J.; CURB, J. D.; RODRIGUEZ, B. L. Antioxidants in cardiovascular health and diseases: key lessons from epidemiologic studies. **Am. J. Cardiol.**, v. 101, n.10, p. 75-86, 2008.

WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. **Biochem.Biophys.Res. Commun.**, v. 305, p. 729-736, 2003.

WISSE, B. E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.15, p. 2792-800, 2004.

WITZTUM J. L.; STEINBERG, D. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? **Trends Cardiovasc.Med.**, v. 11, p. 93-102, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks.** Geneva, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Non-communicable Diseases Country Profiles 2011.** Geneva, 2011.

XAVIER H. T.; IZAR, M. C.; FARIA NETO, J. R.; ASSAD, M. H.; ROCHA, V. Z.; SPOSITO, A. C.; FONSECA, F. A.; DOS SANTOS, J. E.; SANTOS, R. D.; BERTOLAMI, M. C.; FALUDI, A. A.; MARTINEZ, T. L. R.; DIAMENT, J.; GUIMARÃES, A.; FORTI, N. A.; MORIGUCHI, E.; CHAGAS, A. C. P.; COELHO, O. R.; RAMIRES, J. A. F. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq.Bras.Cardiol.**, v.101, n. 4, 2013.

YAMAGUCHI, Y.; MATSUNO, S.; KAGOTA, S.; HAGINAKA, J.; KUNITOMO, M. Oxidants in cigarette smoke extract modify low-density lipoprotein in the plasma and facilitate atherogenesis in the aorta of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. **Atherosclerosis**, v. 156, n. 1, p. 109-117, 2001.

YAO, N.; HE, R. R.; ZENG, X. H.; HUANG, X. J.; DU, T. L.; CUI, J. C.; HIROSHI, K. Hypotriglyceridemic Effects of Apple Polyphenols Extract via Up-Regulation of Lipoprotein Lipase in Triton WR-1339-Induced Mice. **Chin. J. Integr. Med.**, v.20, n. 1, p. 31-35, 2014.

YEH, C. T.; CHING, L. C.; YEN, G. C. Inducing gene expression of cardiac antioxidant enzymes by dietary phenolic acids in rats. **J. Nutr.Biochem.**, v. 20, p. 163-171, 2009.

YOON, K. H.; LEE, J. H.; KIM, J. W.; CHO, J. H.; CHOI, Y. H.; KO, S. H.; et al. Epidemic obesity and type 2 diabetes in Asia. **Lancet**, v.368, n. 9548, p. 1681-1688, 2006.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev.**, v. 74, p. 139 -162, 1994.

ZHAO, Z.; SHIN, H. S.; SATSU, H.; TOTSUKA, M.; SHIMIZU, M. 5-Caffeoylquinic acid and caffeic acid down-regulate the oxidative stress and TNF- α -induced secretion of interleukin-8 from Caco-2 cells. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 3863–3868, 2008.

ZUCCHI, M.I. **Diversidade genética em espécies medicinais**. 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_4/DiversidadeGenetica/index.htm>. Acesso em: 12 nov. 2013.