

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

LUCAS MARTINS FRANÇA

**AVALIAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DE *Syzygium cumini* (L.) SKEELS
NO TRATAMENTO DA OBESIDADE E DISLIPIDEMIA**



São Luís
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LUCAS MARTINS FRANÇA

**AVALIAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DE *Syzygium cumini* (L.) SKEELS NO TRATAMENTO
DA OBESIDADE E DISLIPIDEMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Romão Borges.

São Luís
2010

França, Lucas Martins

Avaliação pré-clínica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels no tratamento da obesidade e dislipidemia / Lucas Martins França. – São Luís, 2010.

61 f.

Impresso por computador (Fotocópia).

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Romão Borges

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós – Graduação em Ciências da Saúde, 2010.

1. Myrtaceae – Obesidade 2. *Syzygium cumini* 3. Hiperlipidemia I.
Título.

CDU 582.776.2 : 616 – 056.25

LUCAS MARTINS FRANÇA

**AVALIAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DE *Syzygium cumini* (L.) SKEELS NO TRATAMENTO
DA OBESIDADE E DISLIPIDEMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Carlos Romão Borges (Orientador)
Doutor em Farmacologia
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Flávia Maria Mendonça do Amaral
Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Antônio Marcus de Andrade Paes
Doutor em Cardiologia
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal
Doutor em Ciências
Universidade Federal de Sergipe

*A*os meus amados pais,
José de França Neto e
Lúcia de Fátima
Martins França pelo amor,
carinho e pelos exemplos de vida e
caráter, os quais me tornaram a
pessoa que sou; e ao meu querido
irmão Rômulo Martins França
pela amizade, companheirismo e
apoio durante todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde e força que nos proporciona e por tudo que ele representa.

Ao Prof. Antônio Carlos Romão Borges pela amizade, aprendizado, confiança e, sobretudo, pela oportunidade de ser seu orientando, dando-me a chance de realizar esse sonho de um dia ser Mestre.

Ao meu estimado amigo, Prof. Antônio Marcus de Andrade Paes pelo constante incentivo à pesquisa, a qual sempre estará presente em minha vida. Pelos conhecimentos adquiridos durante toda nossa convivência e por termos cultivados mais que uma relação aluno-professor e sim de amizade e parceria.

Às professoras Marilene Borges, Flávia do Amaral, Selma do Nascimento, Socorro Cartágenes, Sônia Freire, Rachel Melo e Iracelle Abreu, pela importante contribuição e auxílio prestado no desenvolvimento e finalização desta dissertação.

À minha namorada Marília Correia Bacelar, pela compreensão, apoio incessante e por todo amor, carinho e atenção dedicados a mim durante esta jornada e em tudo que faço.

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo apoio financeiro.

Às minhas amigas Karla Frida Torres Flister e Joleen Lopes Machado, pelo apoio, auxílio e cumplicidade sempre presente em todas as minhas atividades.

À Ahirlan Castro, Dênis Rômulo e Cristiane Machado, pela amizade, parceria e fundamental auxílio durante a realização deste trabalho.

À Marília Moreno e Mariana Ayres, pela amizade e importante contribuição para o cumprimento deste estudo.

Ao Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia, Laboratório de Ensino e Pesquisa em Fisiologia e Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão, por toda infra-estrutura disponibilizada para execução deste e outros trabalhos.

A todos aqueles aqui não citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

"*A*mente que se
abre a uma nova
idéia jamais
voltará ao seu tamanho
original."

Albert Einstein

RESUMO

Syzygium cumini (L.) Skeels (família Myrtaceae) é muito utilizada pela população para o tratamento do diabetes, inflamação, diarreia e para a perda de peso. Muitos estudos tem comprovado sua ação hipoglicemiante, anti-inflamatória e antibiótica. Poucos têm mostrado efeito hipolipemiante utilizando as sementes e nenhum relato avaliando seus efeitos em animais obesos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *S. cumini* em ratos hiperlipidêmicos e obesos. As folhas coletadas no campus do Bacanga da Universidade Federal do Maranhão foram secas e utilizadas para a preparação do EH. A hiperlipidemia foi induzida pela injeção intraperitoneal (i.p) de Triton WR-1339 (0,3 g/kg) em ratos Wistar com 60 dias de vida. Após o estímulo, os animais foram tratados imediatamente, por via oral (v.o), com dose única de ciprofibrato (0,1 g/kg) ou EH nas doses de 0,5 g/kg e 1,0 g/Kg ou NaCl 0,9% (0,1 mL/100g) (n=7 por grupo). Outros animais foram injetados com NaCl 0,9% (0,1 mL/100 g; i.p) e receberam salina isotônica (v.o), formando o grupo controle (CTR, n=7). Em seguida foi realizada a coleta seriada de sangue nos tempos 0, 24, 48 e 72 horas após o tratamento, para a determinação da concentração sérica do colesterol total (CT), triglicérides (TG) e colesterol-HDL (HDL). No modelo experimental de obesidade, filhotes de ratos Wistar foram tratados (s.c) com L-glutamato monossódico (MSG) na dose de 4,0 g/kg, durante os 5 primeiros dias de vida, para indução da obesidade ou salina equiosmolar (0,1mL/10g) para o grupo controle. Com 60 dias de vida os animais obesos receberam diariamente (v.o), durante 8 semanas, solução de NaCl 0,9 % (MSG/CTR), EH nas doses de 0,5 g/Kg (MSG/EH 0,5) ou 1,0 g/Kg (MSG/EH 1,0) e, os animais controle (CTR) receberam NaCl 0,9 %, n=7 por grupo. O ganho ponderal e o consumo de ração foram acompanhados semanalmente durante todo tratamento e o Índice de Lee (IL) foi calculado antes, durante e após o tratamento, para a avaliação do desenvolvimento da obesidade. Ao final das 8 semanas, também foram determinadas as concentrações plasmáticas da glicose, CT, TG, HDL e colesterol-LDL (LDL). Os depósitos adiposos retroperitoneal (RETRO) e periepididimal (PERI) foram retirados e pesados, para avaliação do acúmulo de gordura. Quando avaliado o efeito agudo do EH, o tratamento com as doses de 0,5 e 1,0 g/kg promoveram reduções nas concentrações séricas dos lipídeos nas 24 (22 e 16% - TG; 44 e 42% - CT) e 48 horas (60 e 63% - TG e 52 e 48% - CT), apresentando um efeito maior que a dose do ciprofibrato. Na avaliação do efeito crônico do EH em ratos obesos-MSG, observou-se que durante todo tratamento, não houve alterações no consumo de ração, embora o ganho de peso tenha diminuído a partir da 4ª semana (10 e 11%) até o final (14 e 16%) nos grupos MSG/EH 0,5 e MSG/EH 1,0, respectivamente, em relação ao MSG/CTR. Condição essa que foi acompanhada por reduções do IL de 5 e 7% na 4ª semana e 7 e 10% na 8ª, na qual constatou-se, também, diminuições das gorduras RETRO (36 e 42%) e PERI (35 e 44%) e dos níveis séricos de glicose (30 e 50%), CT (23 e 24%) e TG (46 e 43%) nos grupos tratados com as doses de 0,5 e 1,0 g/kg, respectivamente. Dessa forma, o EH de *S. cumini* apresentou ações hipolipemiantes importantes tanto de forma aguda como crônica, além de uma ação anti-obesidade e hipoglicemiante. Apresentando, assim, um grande potencial de se tornar um fitoterápico de muita utilidade para desordens crônicas que afetam grande parte da população.

Palavras-chave: *Syzygium cumini*. Obesidade. Hiperlipidemia.

ABSTRACT

Syzygium cumini (L.) Skeels (Myrtaceae family) is very used by the population against the diabetes, inflammation, diarrhea and weight loss. Many studies have proven its action hypoglicemiant, anti-inflammatory and antibiotic. Few have shown hypolipidemic effect using the seeds and no reports evaluating its effects in obese animals. This study aimed to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract (HE) of the leaves of *Syzygium cumini* in the hyperlipidemics and obese rats. The leaves were collected on the campus of the Federal University of Maranhão to be dried and preparation of the HE. The hyperlipidemia was induced by intraperitoneal (i.p) injection of Triton WR-1339 (0.3 g/kg) in rats with 60 days of life. After stimulation, the animals were treated immediately, orally (v.o) with single dose of ciprofibrate (0.1 g/kg) or HE at 0.5 g/kg and 1,0 g/kg or NaCl 0.9% (0.1 mL/100 g), n=7 by group. Other animals were injected with NaCl 0.9% (0.1 mL/100 g, ip) and received isotonic saline (v.o), forming the control group (CTR, n=7). Then began the continuous blood sampling at 0, 24, 48 and 72 h after treatment for determination of serum total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and HDL-cholesterol (HDL). In another experimental model, newborns Wistar rats were treated (s.c) with monosodium L-glutamate (MSG) at a dose of 4.0 g/kg during the first 5 days of life, for induction of obesity or equiosmolar saline (0.1 mL/10g weight; control). With 60 days of life the obese animals received (v.o) daily for 8 weeks, NaCl 0.9% (MSG/CTR), HE in doses of 0.5 g/kg (MSG/HE 0.5) or 1.0 g/kg (MSG/HE 1.0) and control animals received 0.9% NaCl (CTR), n = 7 per group. Weight gain and feed intake were monitored weekly throughout treatment and the Lee Index (LI) was calculated before, during and after treatment to assess the development of obesity. At the end of 8 weeks, were also determined plasma concentrations of glucose, TC, TG, HDL and LDL cholesterol (LDL). The fatty deposit retroperitoneal (RETRO) and periepididymal (PERI) were removed and weighed to evaluate the accumulation of fat. When assessed the acute effect of HE, the treatment with doses of 0.5 and 1.0 g/kg promoted reductions in serum lipids in 24 (22 and 16% - TG; 44 and 42% - TC) and 48 hours (60 and 63% - TG; 52 and 48% - TC), showing a greater effect than ciprofibrate. In evaluating the chronic effect of HE in MSG-obese rats, we observed that during the entire treatment, no changes in feed intake, although weight gain has decreased from fourth week (10 and 11%) by the end of treatment (14 and 16%) in both MSG/HE 0.5 and 1.0, respectively, for the MSG/CTR. That condition was accompanied by reductions of 5 and 7% of LI in fourth week and 7 and 10% in the 8th, which was found also decreases the fat RETRO (36 and 42%) and PERI (35 and 44%) and serum glucose levels (30 and 50%), TC (23 and 24%) and TG (46 and 43%) in groups MSG/HE 0.5 and 1.0, respectively. So, the HE of *S. cumini* showed significant lowering actions of both the acute and chronic, as well as an action anti-obesity and hypoglycemic. Thus presenting a great potential to become a very useful herbal medicine for chronic disorders that affect a large population.

Keywords: *Syzygium cumini*. Obesity. Hyperlipidemia.

LISTA DE FIGURAS

		p.
Figura 1	Fórmula do Índice de Lee.....	22
Figura 2	Efeito hipolipemiante agudo do extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de <i>Syzygium cumini</i> em ratos hiperlipidêmicos induzidos por Triton WR – 1339.....	24
Figura 3	Redução do índice de Lee (IL) de ratos obesos – MSG após tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de <i>Syzygium cumini</i>	25
Figura 4	(A): redução do ganho de peso de ratos obesos – MSG durante tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de <i>Syzygium cumini</i> . (B): efeito do tratamento crônico com o EH das folhas de <i>Syzygium cumini</i> no consumo de ração de ratos obesos – MSG.....	26
Figura 5	Redução do tecido adiposo retroperitoneal (RETRO) e periepididimal (PERI) de ratos obesos–MSG após tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de <i>Syzygium cumini</i>	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ca ⁺²	Cálcio
CT	Colesterol total
CTR	Controle
EH	Extrato hidroalcoólico
e.p.m	Erro padrão médio
GH	Hormônio do crescimento
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMGCoA	Hidroxi-metil-glutaril Coenzima A
IMC	Índice de massa corporal
i.p.	Intraperitoneal
IL	Índice de Lee
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPPF	Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia
MSG	Glutamato monossódico
n	Número experimental
NaCl	Cloreto de sódio
PERI	Tecido adiposo periepididimal
PI 3-quinase	Fosfatidil-inositol 3-quinase
PPAR γ	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
RETRO	Tecido adiposo retroperitoneal
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Triglicerídeos
v.o.	Via oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	19
2.1	Geral	19
2.2	Específicos	19
3	CAPÍTULO I	20
	Abstract	20
3.1	Introdução	20
3.2.	Material e métodos	21
	<i>3.2.1 Material botânico e obtenção do extrato hidroalcoólico (EH) de S. cumini</i>	21
	<i>3.2.2 Animais experimentais</i>	22
	<i>3.2.3 Indução da hiperlipidemia e tratamento agudo com EH de S. cumini</i>	22
	<i>3.2.4 Indução da obesidade e tratamento crônico com EH de S. cumini</i>	22
	<i>3.2.5 Avaliação da glicemia em jejum e do perfil lipídico dos animais obesos-MSG</i>	23
	<i>3.2.6 Análise estatística</i>	23
3.3	Resultados	23
	<i>3.3.1 Efeito do tratamento agudo com EH de S. cumini sobre a hiperlipidemia induzida por Triton WR-1339</i>	23
	<i>3.3.2 Efeitos do tratamento crônico com EH de S. cumini sobre o desenvolvimento da obesidade em ratos obesos-MSG</i>	24
	<i>3.3.3 Efeito hipoglicemiante e hipolipemiante do EH de S. cumini em ratos obesos-MSG</i>	27
3.4	Discussão	28
	Agradecimentos	30

Referências	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS.....	36
APÊNDICES.....	45
ANEXO A.....	48

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada por um maior acúmulo de gordura corporal, que deriva de um estilo de vida marcado por um balanço energético positivo, associado ou não a fatores genéticos e alterações neuro – endócrinas, resultando em um maior ganho de peso (MARTÍNEZ; FRUHBECK, 1996; PI – SUNYER, 2002; BERNAL-PACHECO; ROMÁN, 2007).

Dados epidemiológicos mundiais revelam que há mais de um bilhão de adultos com excesso de peso (índice de massa corporal – IMC ≥ 25 kg/m²) e pelo menos 300 milhões destes sofrem de obesidade clínica (HILL et al., 2003). De acordo com algumas estimativas, há no mundo mais indivíduos obesos do que subnutridos, sendo mais alarmante o aumento do número de crianças obesas, que nas últimas duas décadas triplicaram (CHAMPE; HAVERY; FERRIER, 2009). No Brasil, segundo inquérito mais recente realizado pelo Ministério da Saúde (2009) nas vinte sete capitais brasileiras, 43,3% da população estudada (≥ 18 anos) apresentou IMC ≥ 25 kg/m², sendo 13% de obesos (IMC ≥ 30 kg/m²).

Esses dados revelam um grave problema de saúde pública, uma vez que a obesidade está associada a uma série de patologias crônicas como diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias, doenças cardiovasculares, entre outras, que afetam seriamente a qualidade de vida das pessoas (PEREIRA et al., 2003). Não obstante, origina problemas psicológicos que podem reduzir a auto-estima de adultos e crianças, levando a um decréscimo de concentração, aprendizagem e de interações sociais (LÜLLMANN et al., 2008).

O estudo aprofundado da obesidade em humanos, provavelmente, responderia a muitas dúvidas sobre esta patologia, no entanto, pesquisas mais detalhadas com humanos têm óbvias limitações éticas e financeiras. Dessa forma, utiliza-se modelos experimentais de obesidade em animais de laboratório, porque além de serem menos onerosos, permitem grande quantidade de pesquisas e resultados. Nos últimos anos, estes têm contribuído muito para o aumento do conhecimento sobre os diversos fatores causais da obesidade, além de suas conseqüências endócrinas e metabólicas (PEREIRA et al., 2003; CESARETTI; KOHLMANN Jr, 2006).

No modelo de obesidade induzida por L–glutamato monossódico (MSG), os animais desenvolvem obesidade em decorrência de lesões hipotalâmicas decorrentes da administração subcutânea de MSG, a qual interage com receptores específicos na região paraventricular do hipotálamo, mais especificamente no núcleo arqueado e na eminência

mediana. Nestas células, o MSG promove aumento do influxo de Ca^{+2} que resulta em lesão química de aproximadamente 80-90% dos neurônios dessa região (OLNEY, 1969; HOLZWARTH-MCBRIDE et al., 1976). Dentre as conseqüências desta lesão neuronal, está à intensa diminuição da síntese e secreção do hormônio do crescimento (GH) com redução das ações lipolíticas e anabólicas características deste hormônio. Desta forma, o animal MSG adulto apresenta menor capacidade em mobilizar gorduras, o que contribui para o aumento do tecido adiposo (ANTONI et al., 1982; REMKE et al., 1988; SILVA, 1995). Estas lesões também resultam em diminuições no peso da hipófise, gônadas, útero e próstata (BAKKE et al., 1978).

Outra característica desse e outros modelos experimentais de obesidade é o desajuste do sistema nervoso autônomo, com diminuição da atividade simpática e aumento da parassimpática em vários tecidos (ROHNER-JEANRENAUD, 1995). Como resultado, há diminuição do conteúdo de catecolaminas adrenomedulares (MARTINS et al., 2001), aumento da secreção de insulina, com aumento paralelo da resistência periférica à ação da mesma (BALBO et al., 2000), redução da capacidade termogênica do tecido adiposo e menor taxa metabólica basal, o que também favorece o acúmulo de gordura, além de aumento dos triglicerídeos e da glicose plasmática (OIDA, 1984; REMKE et al., 1988; SILVA, 1995; IWASE, 1998; NAGATA, 2006). Todo esse grupo de características exposto acima torna a obesidade induzida pelo MSG um modelo bastante útil na investigação de novas alternativas farmacológicas para o tratamento de doenças crônicas associadas à obesidade, tais como o diabetes mellitus e a hipertrigliceridemia.

O tratamento da obesidade baseia-se em terapias comportamentais dirigidas a modificações de hábitos relacionados à alimentação e atividade física. A utilização de agentes farmacológicos é considerada adjunto a essa terapêutica básica, sendo sua farmacoterapia uma área de muitas mudanças e desenvolvimento de novos medicamentos, uma vez que os medicamentos anti-obesidade presentes no mercado, como os anorexígenos, produzem frequentes efeitos adversos, o que limita bastante seu tempo de uso, sendo que muitos desses fármacos já foram retirados de circulação (MANCINI; HALPERN, 2002; LÜLLMANN et al., 2008).

Os lipídios exercem funções importantes no organismo como a formação das membranas, dos hormônios e reserva energética. Entretanto, as dislipidemias, que são caracterizadas como desordens metabólicas provenientes de distúrbios no transporte lipídico, têm aumentado significativamente em países desenvolvidos e/ou em desenvolvimento, causando entre outras conseqüências, o aumento dos gastos de saúde pública, diminuição da

qualidade e do tempo de vida (OLIVEIRA et al., 2001; RIQUE et al., 2002). No Brasil, o levantamento mais amplo já realizado (1.239 pessoas) demonstrou que 21,6 % dos brasileiros apresentam colesterol elevado (> 200 mg/dL) e 13,9 % estão com os triglicéridos aumentados (> 200 mg/dL) (SBC, 2006).

Há inúmeras evidências sobre a associação da hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia com a aterosclerose, a qual é uma doença inflamatória crônica que ocorre em resposta à agressão endotelial, podendo resultar na formação de placas de ateroma nos vasos, o que representa um grande risco para o aparecimento de afecções vasculares como o infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral, os quais são no Brasil e no mundo as principais causas de morbimortalidade entre adultos com idade produtiva (ROOS et al., 1989; SANTOS, 2001; CORONELLI; MOURA, 2003).

Existem vários modelos experimentais para induzir hiperlipidemia em laboratório, como pela administração de uma sobrecarga de frutose (DAI; MCNEILL, 1995; KATAKAM et al., 1998; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004), da ingestão crônica de etanol (SILVA et al., 2001) ou pela administração parenteral aguda de Triton WR 1339 (Tyloxapol), o qual é um detergente não - aniônico de estrutura polimérica que aumenta consideravelmente os níveis séricos dos lipídios através da inibição da lipoproteína lípase (JAHROMI; RAY, 1993; NAGEM et al., 1994; NAGEM et al., 1995; LEVINE; SALTZMAN, 2007).

A terapêutica das dislipidemias já está bem definida através de diretrizes sobre valores de referência dos lipídios séricos que estão associados diretamente ao maior ou menor risco de injúrias vasculares, direcionando os profissionais de saúde a estabelecerem medidas comportamentais e nutricionais. Com o maior risco do desenvolvimento da aterosclerose faz-se necessário a adesão a tratamento medicamentoso, o qual, também, está bem determinado na literatura, relacionando cada distúrbio lipídico a um ou associações de fármacos. Entretanto, a aquisição desses é onerosa, além de apresentarem efeitos colaterais não tão raros como miosites e hepatites, evidenciados pelas elevações da creatino-fosfoquinase e transaminases, respectivamente, quando do uso das estatinas. Não obstante o tratamento com resinas de troca pode causar distúrbios gastro-intestinais como má absorção de vitaminas lipossolúveis e constipação e o uso de fibratos pode resultar na diminuição da libido, erupções cutâneas, prurido, cefaléia e perturbações no sono (SPOSITO et al., 2007).

As plantas representaram, durante séculos, a única fonte de compostos terapêuticos para o homem. No início do XIX, com o desenvolvimento da química, as plantas passaram a representar a primeira fonte de matéria prima para o desenvolvimento de

medicamentos, sejam eles naturais ou sintéticos (HOSTETTMANN et al., 2003; ZARONI et al., 2004; ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

Com o reconhecimento da obesidade como epidemia mundial e das dislipidemias como um dos principais fatores de risco para doenças vasculares, emerge a necessidade de melhorar a qualidade e a eficácia dos tratamentos farmacológicos disponíveis, visto que os disponíveis são onerosos e apresentam muitos efeitos adversos (JAMES et al., 2001; MANCINI; HALPERN, 2002). Nesse contexto, a pesquisa de novos fármacos a partir de plantas medicinais representa uma alternativa para a diminuição da prevalência desses distúrbios metabólicos.

Muitas espécies vegetais têm sido usadas popularmente no tratamento da obesidade, algumas com comprovação experimental como *Nelumbo nucifera* (ONO et al., 2006), *Citrus aurantium* (CALAPAI et al., 1999) e *Hibiscus sabdariffa*, cujo efeito foi demonstrado em camundongos obesos induzidos pelo MSG (ALARCON – AGUILAR et al., 2007). Moro e Basile (2000), em artigo de revisão sobre obesidade e plantas medicinais, reuniram várias espécies com comprovada ação anti-obesidade, destacando os princípios ativos responsáveis pelo efeito, assim como seus mecanismos de ação, que podem ser por estimulação do metabolismo ou modulação do apetite.

Estudos pré-clínicos têm constatado efeito hipolipemiante de muitas espécies vegetais como *Camellia sinensis* (chá verde) que também promove redução do peso corporal (FREITAS; NAVARRO, 2007), *Gardenia jasminoides* (LEE et al., 2005), *Rhus verniciflua* (OH et al., 2006), *Ananas comosus* L. (XIE et al., 2007) e *Pleurospermum kamtschaticum* (JUNG et al., 2007), sendo que na maioria desses estudos foi utilizado o modelo de hiperlipidemia induzida pelo Triton WR-1339.

Syzygium cumini (L.) Skeels é uma Angiospermae da família Myrtaceae, originária da Ásia Tropical, principalmente da Índia, Malásia e China, e cultivada em vários países, inclusive no Brasil. É uma árvore de grande porte (até 10 metros de altura), com folhas simples e frutos de cor roxo-escuro, com uma única semente coberta de polpa comestível, mucilaginoso, doce, mas adstringente. As principais sinonímias são *Syzygium jambolanum* (Lam.) D.C., *Eugenia jambolana* Lam., *Eugenia cumini* (L.) Druce, *Myrtus cumini* L. e *Calyptanthus oneillii* Lundell, sendo conhecido popularmente como jambolão, cereja, azeitona, jamelão, jalão, jambol, jambu, jambul, azeitona-do-nordeste, murta e ameixa roxa (LORENZI; MATOS, 2008).

A casca, fruto, semente e folha dessa planta, são utilizados pela população, principalmente, no tratamento do diabetes mellitus e administrados na forma de diferentes

preparados como extrato aquoso ou decocção, extrato etanólico ou o suco da planta crua (PEPATO et al., 2001). É muito freqüente no litoral do estado do Maranhão, onde é empregado no controle da hipertensão, diarreia e para redução do colesterol, assim como no tratamento do diabetes (LAINETTI; BRITO, 1979; PIO CORRÊA, 1984; RÊGO, 1995).

A planta em estudo apresenta uma grande diversidade fitoquímica, que varia de acordo com a parte analisada. Nas sementes são encontrados taninos hidrolisáveis (ácido gálico, elágico, corilágico), quercetina, antimelina, óleos essenciais (α - e β -pineno, canfeno, mirceno, limoneno, cis-ocineno, trans-ocineno, γ -terpineno, acetato de bornila, α -copaeno, α -humuleno e candineno), materiais resinosos e glicose (AHMAD; BEG, 2001; DAMASCENO et al., 2002). Nas cascas foram encontrados ácido acetil-oleanólico, triterpenóides, ácido elágico, isoquercetina, quercetina, canferol e miricetina (MIGLIATO et al., 2006). Nas folhas foram encontrados ácido gálico, metilgalato, canferol, miricetina, ácido elágico, ácido clorogênico, quercetina e nilocitina, os frutos possuem antocianidinas e nas flores ácido oleanólico (ALBERTON et al., 2001; MAHMOUD et al., 2001; TIMBOLA et al., 2002).

Muitos estudos *in vivo* têm constatado o efeito hipoglicemiante de *S. cumini*, tanto em extratos alcoólicos e aquosos das sementes (MAHAPATRA et al., 1985; INDIRA; MOHAN RAM 1992; PRINCE et al., 1998), quanto em aquosos das folhas (COIMBRA et al., 1992; TEIXEIRA et al., 1997; SOARES et al., 2000). O efeito anti-hiperglicemiante foi observado no extrato metanólico da casca (VILLASEÑOR; LAMADRID, 2006). Além disso, Anandharajan e colaboradores (2006) demonstraram *in vitro* que o extrato metanólico de *S. cumini* é capaz de aumentar a captação de glicose em células musculares L6 por aumentar as expressões do transportador de glicose (GLUT-4), do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ) e da fosfatidil-inositol 3-quinase (PI 3-quinase).

Do extrato das folhas do jambolão foram comprovadas atividades hipotensora e diurético (CIRQUEIRA; ALVES, 2005), leishmanicida (BEZERRA, 2006), anti-alérgica (BRITO et al., 2007), anti-oxidante (RUAN et al., 2008) e anti-sepse (MACIEL et al., 2008). As sementes, folhas e a casca demonstraram efeito anti-inflamatório, até mesmo em modelo de artrite em ratos (CHAUDHUEI et al., 1990; SLOWING et al., 1994; MURUGANANDAN et al., 2001; KUMAR et al., 2008). Extratos das sementes apresentaram atividades anti-pirética (GHOSH et al., 1985), anti-HIV (KUSUMOTO et al., 1995), anti-oxidante (RAVI; RAMACHANDRAN; SUBRAMANIAN, 2004), anti-bacteriana e anti-fúngica (CHANDRASEKARAN; VENKATESALU, 2004) e anti-ulcerogênica (CHATURVEDI et al., 2009).

Quando avaliado o efeito tóxico do extrato hidroetanólico (EH) das folhas dessa espécie em camundongos, não foi observado sinais de toxicidade aguda por via oral, embora por via intraperitoneal determinou-se a dose letal mediana (DL₅₀) de 0,489 g/kg, sendo que não foi possível determiná-la em ratos Wistar por nenhuma das vias de administração expostas acima. Também não foram observadas alterações tóxicas em cortes histológicos de vários órgãos e sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos quando os ratos foram tratados com o mesmo EH por 180 dias (SILVA, 2006).

O efeito hipolipemiante de *S. cumini* tem sido analisado em poucos trabalhos, como o constatado por Silva (2006) em ratos Wistar normais após 180 dias de tratamento com o EH das folhas dessa espécie, principalmente na dose de 0,25 g/kg. Em outros, o modelo experimental mais utilizado é a indução de diabetes por aloxana ou estreptozotocina, não se constituindo efetivamente em um modelo de hiperlipidemia, sendo que os efeitos observados foram obtidos com o emprego de extratos hidroalcoólicos e ricos em flavonóides oriundos apenas das sementes (SHARMA et al., 2003; PRINCE et al., 2004; RAVI et al., 2005; SHARMA et al., 2008).

Espécies da família Myrtaceae, como *Myrtus communis* L. (EVEREST; OSTURK, 2005) e *Eugenia uniflora* (FERRO et al., 1988) são utilizados popularmente no combate à obesidade na Turquia e no Paraguai, respectivamente. Não obstante, Dickel e colaboradores (2007), realizaram um estudo de revisão das plantas utilizadas pela população da região sul do Brasil no tratamento do aumento de peso, dentre as quais se destaca a espécie *S. cumini*. Sendo que o tratamento (0,25 g/kg), por via oral, com o extrato hidroetanólico das folhas de *S. cumini* em ratos machos Wistar promoveu diminuição do ganho de peso da 15^a até a 25^a semana de tratamento, não interferindo no consumo alimentar desses animais (SILVA, 2006). Entretanto, não existem estudos avaliando o efeito desse vegetal em nenhum modelo experimental de obesidade.

O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, através do Ministério da Saúde, lançou em fevereiro de 2009 a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), com o intuito de estimular a pesquisa e subsidiar a cadeia produtiva de várias espécies vegetais com potencial de gerar produtos de interesse ao SUS (BRASIL, 2009). A grande ocorrência e o amplo uso popular de *S. cumini* como planta medicinal, aliado à presença de estudos prévios de validação e a necessidade de mais dados científicos que confirmem suas várias atividades farmacológicas, fez com que a mesma figurasse na referida relação.

Nesse sentido, com o presente trabalho procurou-se contribuir para o maior aprofundamento de estudos e investigações que validem a eficácia do uso de *S. cumini* no combate a desordens crônicas como a obesidade, hiperlipidemia e diabetes mellitus. Assim, essa pesquisa teve a finalidade de fornecer bases científicas importantes ao estudo da espécie *S. cumini*, a qual apresenta um grande potencial em se tornar um fitoterápico de grande utilidade para a população.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito farmacológico do extrato hidroalcoólico das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels em ratos obesos e hiperlipidêmicos.

2.2 Específicos

- Avaliar o efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico das folhas de *S. cumini* sobre as concentrações séricas de lipídeos em ratos hiperlipidêmicos;
- Avaliar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico das folhas de *S. cumini* sobre o consumo de ração, peso corporal, índice de Lee e acúmulo das gorduras retroperitoneal e periepididimal de ratos obesos induzidos pelo L-glutamato monossódico (MSG);
- Avaliar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico das folhas de *S. cumini* sobre as concentrações séricas de lipídeos e glicose de ratos obesos – MSG;

3 CAPÍTULO I

Hypolipidemic and anti-obesity effects of leaves of *Syzygium cumini* in hyperlipidemic and MSG - obese rats

França, L. M.^a, Borges, A. C. R.^{a,*}

^aLaboratory of Pharmacology, Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil.

Abstract

Syzygium cumini (L.) Skeels is a species of the Myrtaceae family with high occurrence in Brazil and around the world and widely used by the population against diabetes, inflammation, diarrhea and weight loss. This study aimed to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract (HE) of the leaves of *Syzygium cumini* in the hyperlipidemics and obese rats. Wistar rats with 60 days of life received single administration of Triton WR-1339 (0.3 g/kg) to become hyperlipidemics. These animals received treatment (single dose, v.o) with 0.1 g/kg ciprofibrate, HE (0.5 g/kg and 1.0 g/kg) and 0.9% NaCl (0,1 ml/100 g). The continuous blood sampling at 0, 24, 48 and 72 h after treatment for determination of serum total cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol. In another experimental model, MSG rats with 60 days of life received (v.o) daily for 8 weeks, NaCl 0.9% (MSG/CTR), HE in doses of 0.5 g/kg or 1.0 g/kg and control animals received 0.9% NaCl. Weight gain, feed intake, Lee Index (LI), fat deposits and biochemical parameters were evaluated in these animals. The HE demonstrated hypolipemiant acute effect in Triton WR-1339 animals. In rats MSG-obese, the of *S. cumini* promoted reductions in weight gain, LI, fat accumulation and glucose. In addition to also demonstrate a lipid-lowering action. The HE showed significant hypolipemiant actions of both chronic and acute treatment, as well as an action anti-obesity and hypoglycemic, which agrees with the popular use. Thus presenting a great potential to become a very useful herbal medicine for chronic disorders that affect a large population.

Keywords: *Syzygium cumini*, obesity, hyperlipidemia.

Artigo será submetido ao Journal of Ethnopharmacology

3.1 Introdução

A obesidade é caracterizada por um maior acúmulo de gordura corporal, que deriva de um estilo de vida marcado por um balanço energético positivo, associado ou não a fatores genéticos (Pi – Sunyer, 2002; Bernal-Pacheco e Román, 2007). Isso se torna um grave problema de saúde pública, uma vez que ela está associada a uma série de patologias crônicas que afetam seriamente a qualidade de vida dos indivíduos, como diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia e doenças cardiovasculares (Pereira et al., 2003), causando entre outras conseqüências, o aumento dos gastos com saúde pública e diminuição da qualidade e do tempo de vida do indivíduo (Oliveira et al., 2001; Rique et al., 2002).

Muitas espécies vegetais tem sido usadas na prática popular no tratamento da obesidade e algumas com comprovação experimental como *Nelumbo nucifera* (Ono et al., 2006), *Citrus aurantium* (Calapai et al., 1999) e *Hibiscus sabdariffa*, cujo efeito foi demonstrado em camundongos obesos induzidos pelo L-glutamato monossódico (MSG)

(Alarcon – Aguilar et al., 2007). Além destes estudos, avaliações pré-clínicas têm constatado efeito hipolipemiante de muitas espécies vegetais como *Camellia sinensis* (chá verde) que também promove redução do peso corporal (Freitas e Navarro, 2007), *Gardenia jasminoides* (Lee et al., 2005), *Rhus verniciflua* (Oh et al., 2006), *Ananas comosus* L. (Xie et al., 2007) e *Pleurospermum kamtschaticum* (Jung et al., 2007).

Syzygium cumini (L.) Skeels (sinonímia: *Syzygium jambolanum* D.C., *Eugenia jambolana* Lam.) é uma Angiospermae da família Myrtaceae, originária da Ásia tropical, principalmente da Índia, Malásia e China, e cultivada em vários países, inclusive no Brasil, onde é conhecida popularmente como jabolão, jamelão entre outros nomes. É utilizado popularmente para diversas enfermidades como infecções, diarreias, inflamações e principalmente no combate ao diabetes mellitus (Migliato et al., 2006; Lorenzi e Matos, 2008).

Recentemente, o Ministério da Saúde incluiu esta espécie na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), reconhecendo o papel do *Syzygium cumini* no contexto etnofarmacológico brasileiro. Muitos estudos *in vivo* e *in vitro* de diversas partes da planta têm comprovado seu efeito hipoglicemiante (Coimbra et al., 1992; Teixeira et al., 1997; Prince et al., 2004; Anandharajan et al., 2006; Villaseñor e Lamadrid, 2006). Todavia, poucos demonstraram uma ação hipolipemiante, que foi observada apenas em modelos experimentais de diabetes e utilizando extratos das sementes (Sharma et al., 2003; Ravi et al., 2005; Sharma et al., 2008). Além disso, não há estudos controlados que tenham avaliado essa espécie vegetal em nenhum modelo experimental de obesidade, embora a mesma tenha sido citada em um levantamento das plantas utilizadas pela população da região sul do Brasil no tratamento do aumento de peso (Dickel et al., 2007).

Dessa forma, com o intuito de ratificar e demonstrar outras atividades biológicas dessa espécie vegetal, este trabalho teve a finalidade de avaliar os efeitos farmacológicos do extrato hidroalcoólico das folhas de *Syzygium cumini* em ratos obesos e ratos hiperlipidêmicos induzidos experimentalmente.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Material botânico e obtenção do extrato hidroalcoólico (EH) de *S. cumini*

As folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Apêndice A) foram coletadas no Campus do Bacanga da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), em janeiro de 2008, na cidade de São Luís no estado do Maranhão, Brasil. A exsiccata da espécie vegetal está registrada no Herbário Ático Seabra da UFMA sob nº 1079.

Após a coleta, o material foi seco em estufa de circulação de ar (40°C) e pulverizado em moinho elétrico. Utilizou-se 500 g de pó das folhas que foram maceradas em solução hidroalcoólica (etanol 70%), na concentração de 25% (p/v), durante nove dias com agitação a cada 6 horas e renovação do solvente a cada três dias.

O material extraído foi filtrado e concentrado à temperatura de 45°C em rotaevaporador à pressão reduzida. O extrato concentrado final obtido foi denominado de extrato hidroalcoólico de *Syzygium cumini* (EH), o qual foi liofilizado. O peso seco do EH foi de 66,4 g (22% de rendimento), que foi ressuspensão, no momento do uso, em água destilada para administração nos animais experimentais.

3.2.2 Animais experimentais

Ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* Wistar, provenientes do Biotério Central da UFMA foram confinados em gaiolas no biotério setorial do Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia (LPPF) em sala com temperatura controlada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e período cíclico de luminosidade de 12h, com água e ração *ad libitum*. Todo procedimento envolvendo animais foi realizado de acordo com Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão, e está protocolado sob o nº 001/09.

3.2.3 Indução da hiperlipidemia e tratamento agudo com EH de *S. cumini*

Ratos machos pesando de $243 \pm 10,4$ g foram randomizados e receberam pela via intraperitoneal (i.p) Triton WR-1339 (Sigma Chemical Co.), na dose de 0,3 g/Kg, para indução da hiperlipidemia (Mathur et al., 1964; Silva et al., 2001), ou NaCl 0,9 % (0,1 mL/100g), grupo controle. Em seguida, os animais injetados com Triton WR-1339 foram distribuídos em grupos e receberam por via oral (v.o) em uma única administração: 0,1 g/kg de ciprofibrato, (Cipro), EH nas doses de 0,5 g/kg (EH 0,5) ou 1,0 g/Kg (EH 1,0), e NaCl 0,9 % (0,1 mL/100g; grupo Triton) ou salina isotônica naqueles injetados com NaCl 0,9 % (CTR). O número experimental de animais de cada grupo foi de 7.

Para quantificação dos parâmetros lipídicos, foram coletadas amostras de sangue periférico, diretamente do plexo venoso ocular, antes (valor basal) e após 24, 48 e 72 horas dos tratamentos. As amostras foram processadas em centrifuga com rotação de 3500 rpm durante cinco minutos e os soros separados para determinação das concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total e colesterol-HDL através de métodos enzimáticos colorimétricos (Pérez et al, 1999).

3.2.4 Indução da obesidade e tratamento crônico com EH de *S. cumini*

Durante os cinco primeiros dias de vida, filhotes machos de ratos foram injetados por via subcutânea (s.c), na região dorso-cervical, com solução de L-glutamato monossódico (MSG) na dose de 4,0 g/Kg/dia, para indução da obesidade. Os animais controle receberam uma injeção de solução salina equiosmolar (0,1mL/10g de peso) (Dolnikoff et al., 1988).

Após 21 dias de vida foi realizado o desmame dos animais que foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (MSG/CTR; MSG/EH 0,5; MSG/EH 1,0 e CTR) com 7 ratos cada. O desenvolvimento da obesidade foi avaliado, antes, durante e após o tratamento, pelo cálculo do Índice de Lee (Bernardis e Patterson, 1968) (Fig. 1).

$$\frac{\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)}}}{\text{comprimento naso - anal (cm)}} \times 1000$$

Fig. 1. Fórmula do Índice de Lee

Com 60 dias de vida os animais obesos-MSG (Apêndice B) receberam por via oral, diariamente, durante 8 semanas, solução de NaCl 0,9 % (grupo MSG/CTR), EH nas doses de 0,5 g/Kg (MSG/EH 0,5) ou 1,0 g/Kg (MSG/EH 1,0). Os animais não-obesos receberam NaCl 0,9 % (CTR). Durante todo o período de tratamento, o consumo de ração e a avaliação do desenvolvimento ponderal foram realizados três vezes por semana. Ao final do tratamento, os depósitos adiposos periepídídimal e retroperitoneal foram retirados e avaliados de forma relativa ao peso dos animais e expressos como grama de gordura por 100 g de peso do animal (g%), para a análise do acúmulo de gordura.

3.2.5 Avaliação da glicemia e do perfil lipídico dos animais obesos – MSG

Ao final do tratamento, os animais foram submetidos a uma restrição alimentar de 12 h para coleta de sangue pela veia abdominal. Após coagulação, o sangue foi centrifugado a 3500 rpm por 5 min para obtenção do soro, que foi utilizado para a determinação das concentrações de glicose, triglicerídeos (TG), colesterol total (CT) e colesterol – HDL (c-HDL) por métodos enzimáticos colorimétricos. O colesterol – LDL (c-LDL) foi calculado pela fórmula de Friedwald (Friedwald et al., 1972): $c\text{-LDL} = CT - (c\text{-HDL} + TG/5)$.

3.2.6 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão das médias (e.p.m) e os grupos comparados entre si pelo teste ANOVA, utilizando o Newman – Keuls como pós-teste. As diferenças foram significativas quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico GraphPad Prism versão 5.0.

3.3 Resultados

3.3.1 Efeito do tratamento agudo com EH de *S. cumini* sobre a hiperlipidemia induzida por Triton WR-1339

A administração intraperitoneal de Triton WR-1339 (0,3 g/kg) promoveu marcada elevação dos níveis séricos de triglicerídeos (TG) e colesterol total (CT) em todos os grupos estimulados, quando comparados ao grupo tratado apenas com veículo (CTR). A administração aguda de EH, nas doses de 0,5 ou 1,0 g/kg, tanto reduziu o pico trigliceridêmico máximo em 24 horas (de 4078 ± 194 mg/dL – Triton, para 3164 ± 197 mg/dL e 3411 ± 146 mg/dL nos grupos EH 0,5 e 1,0, respectivamente), quanto aumentou a eficiência metabólica do animal ao intensificar a queda dos níveis séricos nas 48 horas, de 2151 ± 66 mg/dL (Triton), para 857 ± 260 mg/dL (EH 0,5) e 798 ± 170 mg/dL (EH 1,0) (Fig. 2A). Além disso, o efeito do EH em ambas as doses foi maior que o do ciprofibrato (0,1 g/kg). Ao final da avaliação (72h), não houve diferença dos níveis de TG entre os grupos, voltando todos a valores basais (Fig. 2A). Efeitos semelhantes foram observados quando analisadas as concentrações séricas de CT. Novamente, o EH demonstrou uma maior ação hipolipemiante que o ciprofibrato tanto em diminuir a concentração em pico ($496 \pm 9,5$ mg/dL – Triton; 276

± 34 mg/dL – EH 0,5; 287 ± 20 mg/dL – EH 1,0), quanto em acelerar a redução de tais concentrações ($375 \pm 6,1$ mg/dL – Triton; 179 ± 40 mg/dL – EH 0,5; 194 ± 26 mg/dL – EH 1,0) (Fig. 2B).

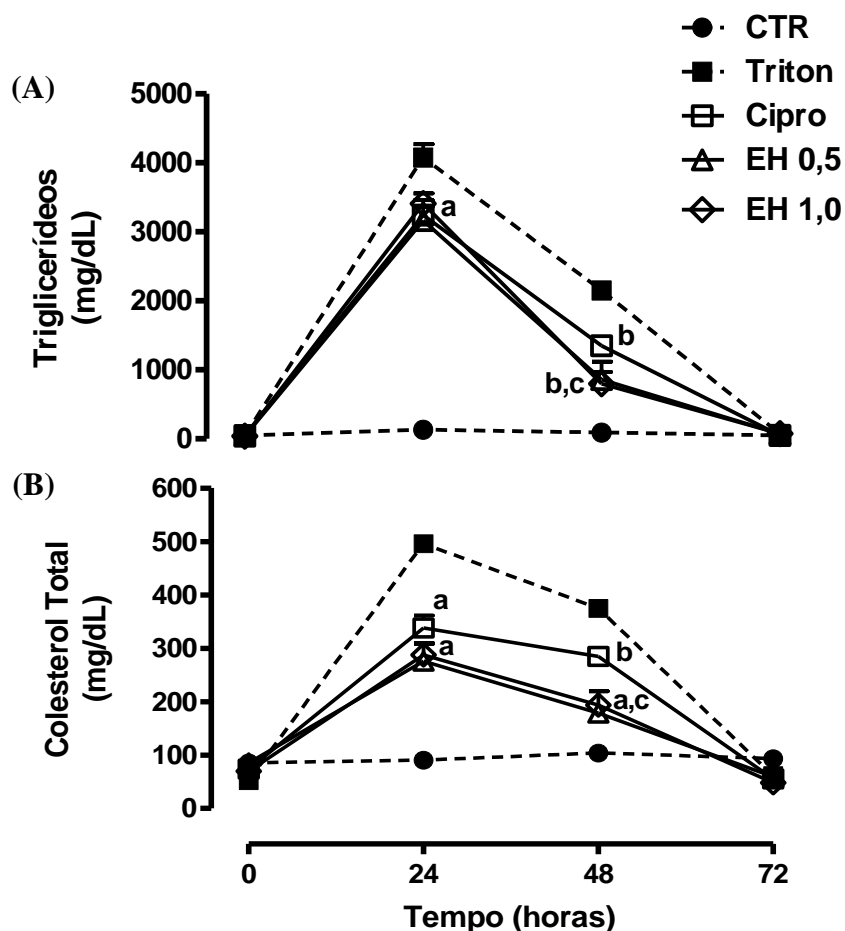


Fig. 2. Efeito hipolipemiante agudo do extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Syzygium cumini* em ratos hiperlipidêmicos induzidos por Triton WR – 1339. Após administração com Triton WR – 1339 (i.p. – 0,3 g/kg), para induzir hiperlipidemia, ratos Wistar receberam administração única (v.o) do EH de *S. cumini* nas doses de 0,5 g/kg (EH 0,5) e 1,0 g/kg (EH 1,0), de ciprofibrato (0,1 g/kg; grupo Cipro) ou salina isotônica (grupo Triton) para avaliação dos níveis séricos dos triglicerídeos e colesterol total durante 72 h. O grupo CTR é composto por ratos não-obesos que receberam salina isotônica (v.o). Em cada tempo os valores são expressos como média \pm e.p.m., $n=7$. Em (A): ^a $p<0,01$ e ^b $p<0,0001$ diferença versus Triton; ^c $p<0,05$ diferença versus Cipro 0,1g/kg. Em (B): ^a $p<0,0001$ e ^b $p<0,01$ diferença versus Triton; ^c $p<0,0001$ diferença versus Cipro 0,1g/kg.

3.3.2 Efeitos do tratamento crônico com EH de *S. cumini* sobre o desenvolvimento da obesidade em ratos obesos–MSG

Para avaliação dos efeitos crônicos do EH de *S. cumini* sobre o desenvolvimento da obesidade e metabolismo de lipídios empregou-se o modelo de obesidade induzida pela injeção neonatal de glutamato monossódico (MSG). A indução da obesidade se confirmou pelo aumento significativo do Índice de Lee (IL) dos animais MSG ($338 \pm 1,5$ g^{1/3}.cm⁻¹) comparados aos controles não-obesos ($306 \pm 4,7$ g^{1/3}.cm⁻¹). Os animais MSG foram, então, divididos em três grupos aos quais foi administrado o EH de *S. cumini* nas doses de 0,5 g/kg e 1,0 g/kg, cujos IL por grupo foram de $338,2 \pm 1,3$ g^{1/3}.cm⁻¹ e $334,8 \pm 3,2$ g^{1/3}.cm⁻¹,

respectivamente. O terceiro grupo recebeu apenas veículo como tratamento ($IL = 340 \pm 2,7 \text{ g}^{1/3} \cdot \text{cm}^{-1}$). Como mostrado na figura 3, os efeitos do EH sobre a distribuição corpórea de gordura puderam ser observados já na quarta semana de tratamento, quando o EH de *S. cumini*, reduziu o IL em 5,0 e 7,0 %, para as doses de 0,5 e 1,0 g/kg, respectivamente. Esta condição se intensificou ao final do tratamento, quando as reduções foram de 7% e 10%, para as mesmas doses, respectivamente (Fig. 3).

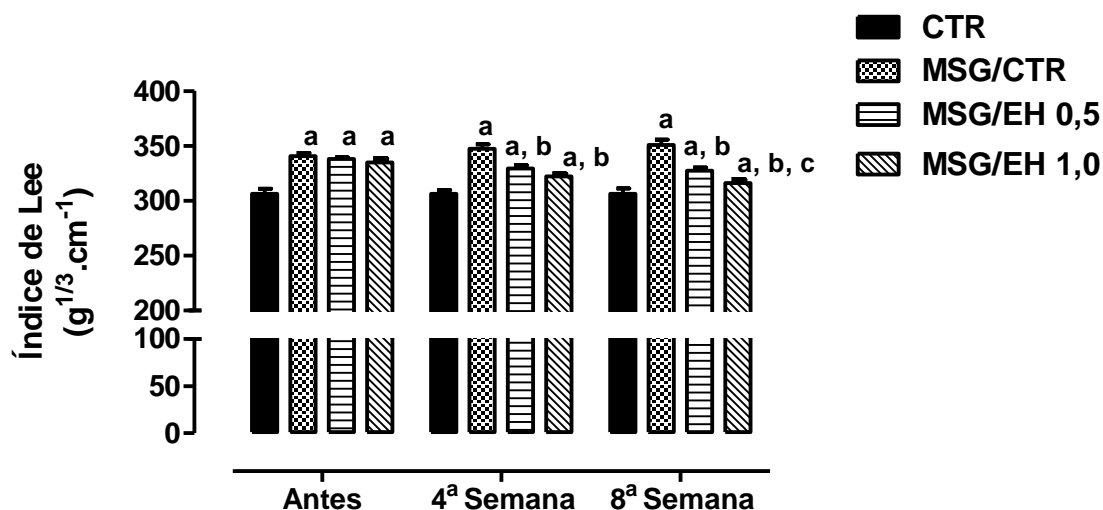


Fig. 3. Redução do índice de Lee (IL) de ratos obesos – MSG após tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Syzygium cumini*. Ratos obesos–MSG com 60 dias de vida receberam administração (v.o) diária de salina isotônica (MSG/CTR) ou EH de *S. cumini* nas doses de 0,5 g/kg (MSG/EH 0,5) e 1,0 g/kg (MSG/EH 1,0) durante 8 semanas. O grupo CTR é composto por ratos não-obesos que receberam salina isotônica (v.o). Os valores do IL foram avaliados antes e após a 4ª e 8ª semana de tratamento, sendo expressos como média \pm e.p.m., $n=7$. ^a $p<0,0001$ diferença versus CTR; ^b $p<0,0001$ diferença versus MSG/CTR; ^c $p<0,05$ diferença versus MSG/EH 0,5 g/kg.

Em relação ao acompanhamento do peso corporal, os animais obesos tratados com MSG (MSG/CTR) apresentaram evolução ponderal significativamente menor que a observada no grupo controle (Fig. 4A). Quando analisados os animais obesos MSG, a administração oral do EH de *S. cumini*, pelo período de 8 semanas, reduziu o ganho de peso em ambos os grupos tratados com 0,5 ou 1,0 g/kg, efeito este evidenciado a partir da quarta semana de tratamento quando os animais dos grupos MSG/EH 0,5 e 1,0 apresentaram reduções de 10 % do ganho de peso em relação ao grupo MSG/CTR (Fig. 4A). Quanto à avaliação do consumo de ração, não houve diferença entre os grupos obesos-MSG, embora estes demonstraram uma hiperfagia, quando comparados aos animais CTR (Fig. 4B).

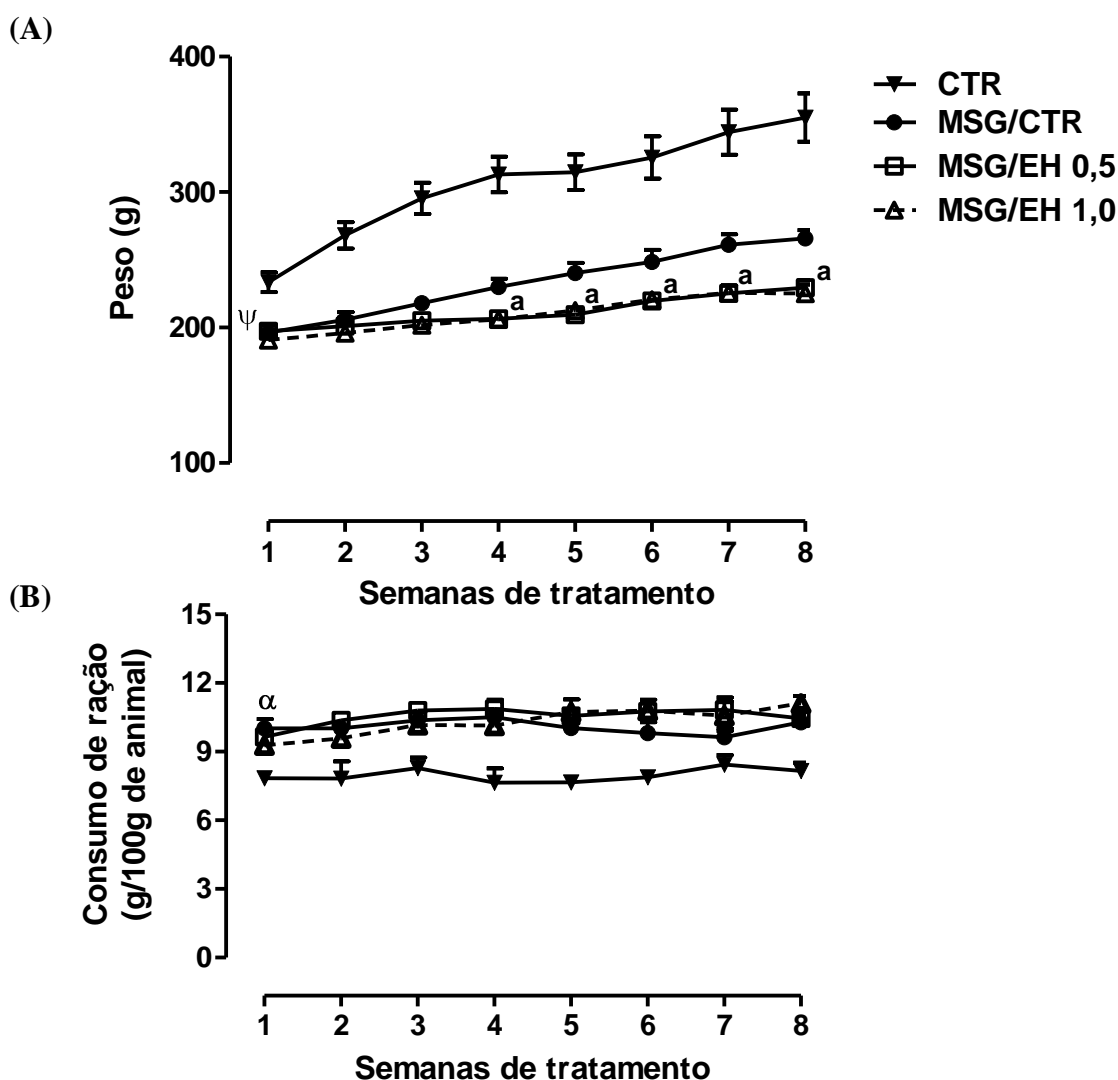


Fig. 4. (A): redução do ganho de peso de ratos obesos – MSG durante tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Syzygium cumini*. (B): efeito do tratamento crônico com o EH das folhas de *Syzygium cumini* no consumo de ração de ratos obesos – MSG. Ratos obesos–MSG com 60 dias de vida receberam administração (v.o) diária de salina isotônica (MSG/CTR) ou EH de *S. cumini* nas doses de 0,5 g/kg (MSG/EH 0,5) e 1,0 g/kg (MSG/EH 1,0) durante 8 semanas. O grupo CTR é composto por ratos não-obesos que receberam salina isotônica (v.o). Em cada semana os valores são expressos como média \pm e.p.m., $n=7$. Em (A): ^adiferença versus MSG/CTR ($p<0,05$) e ^ψdiferença versus CTR ($p<0,05$). Em (B): ^αdiferença versus CTR ($p<0,01$).

Na avaliação dos depósitos das gorduras retroperitoneal (RETRO) e periepididimal (PERI), verificou-se um aumento de pelo menos três vezes do acúmulo de gordura dos animais do grupo MSG/CTR (RETRO: $3,1 \pm 0,30$ g% e PERI: $2,3 \pm 0,18$ g%), quando comparado aos depósitos dos animais dos grupos CTR (RETRO: $0,61 \pm 0,06$ g% e PERI: $0,68 \pm 0,03$ g%). Entretanto, o tratamento com EH de *S. cumini* promoveu reduções expressivas das gorduras nos grupos MSG/EH 0,5 (RETRO: 36%; PERI: 35%) e MSG/EH 1,0 (RETRO: 42%; PERI: 44%), em relação ao grupo MSG/CTR. Não houve diferença entre os grupos tratados com o EH (Fig. 5).

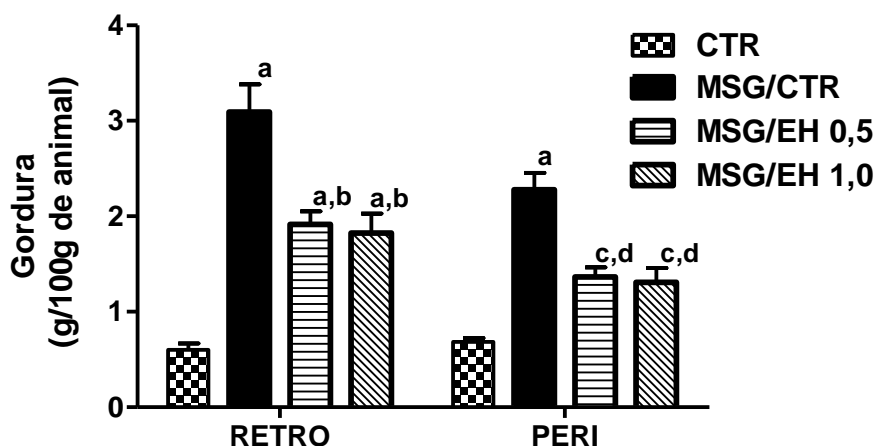


Fig. 5. Redução do tecido adiposo retroperitoneal (RETRO) e periepididimal (PERI) de ratos obesos – MSG após tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Syzygium cumini*. Ratos obesos–MSG com 60 dias de vida receberam administração (v.o) diária de salina isotônica (MSG/CTR) ou EH de *S. cumini* nas doses de 0,5 g/kg (MSG/EH 0,5) e 1,0 g/kg (MSG/EH 1,0) durante 8 semanas. O grupo CTR é composto por ratos não-obesos que receberam salina isotônica (v.o). Os valores das gorduras foram avaliados após a 8ª semana de tratamento, sendo expressos como média \pm e.p.m., $n=7$. ^a $p<0,0001$ e ^c $p<0,01$ diferença versus CTR; ^{b,d} $p<0,0001$ diferença versus MSG/CTR.

3.3.3 Efeito hipoglicemiante e hipolipemiante do EH de *S. cumini* em ratos obesos–MSG

A concentração sérica de glicose em jejum e triglicerídeos foi maior nos animais MSG/CTR do que nos CTR. Entre os grupos MSG constatou-se redução da glicemia nas doses de 0,5 g/kg e 1,0 g/kg, em relação ao MSG/CTR, sendo que nos animais tratados com a maior dose a diminuição foi mais significativa, atingindo valores estatisticamente iguais ao do grupo CTR (Tabela 1).

Tabela 1
Efeito hipoglicemiante e hipolipemiante do tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Syzygium cumini* em ratos obesos–MSG

Parâmetros	Grupos			
	CTR	MSG/CTR	MSG/EH 0,5	MSG/EH 1,0
Glicose (mg/dL)	69,4 \pm 4,2 ^a	143,1 \pm 5,9 ^b	100,4 \pm 7,6 ^c	72,3 \pm 8,1 ^{a,d}
Triglicerídeos (mg/dL)	92,1 \pm 6,7 ^a	121,9 \pm 6,2 ^b	65,6 \pm 9,3 ^{a,c}	70,0 \pm 8,5 ^{a,c}
Colesterol total (mg/dL)	64,6 \pm 3,1 ^a	69,4 \pm 5,2 ^a	53,2 \pm 2,2 ^b	52,8 \pm 1,5 ^b
Colesterol–HDL (mg/dL)	37,8 \pm 1,6 ^a	29,6 \pm 4,4 ^a	31,7 \pm 5,2 ^a	29,0 \pm 2,9 ^a
Colesterol–LDL (mg/dL)	14,4 \pm 1,5 ^a	15,1 \pm 1,5 ^a	16,1 \pm 1,8 ^a	15,3 \pm 1,8 ^a

Ratos obesos–MSG foram tratados (v.o) diariamente, durante 8 semanas, com salina isotônica (MSG/CTR) ou EH de *S. cumini* nas doses de 0,5g/kg (MSG/EH 0,5) e 1,0 g/kg (MSG/EH 1,0). O grupo CTR é composto por ratos não-obesos que receberam salina isotônica (v.o). Os valores representam média \pm e.p.m., $n=7$. Em cada linha, valores com a mesma letra não apresentam diferença significativa ($p<0,05$).

O efeito do tratamento de 8 semanas com o EH de *S. cumini* em rato obesos–MSG resultou em diminuições dos níveis plasmáticos de colesterol total tanto na dose de 0,5 g/kg como na de 1,0 g/kg, quando comparados com o grupo MSG/CTR. Não houve diferença entre os grupos tratados com o EH. Em relação aos níveis séricos de triglicérides o EH de *S. cumini* mostrou também uma ação hipotriglicéridemiante tanto no grupo MSG/EH 0,5 como naquele tratado com a maior dose, quando comparados com os animais MSG/CTR. Não ocorreram alterações entre os grupos tratados com o EH. Sobre os outros parâmetros do lipidograma (colesterol do LDL e HDL), o tratamento com EH de *S. cumini* não provocou nenhuma alteração nas concentrações desses constituintes, nos animais obesos – MSG (Tabela 1).

3.4 Discussão

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morbi-mortalidade global sendo responsáveis por 17 milhões de mortes anualmente, o que corresponde a um terço do total de óbitos no mundo em 2001 (Cosentino et al., 2007). A dislipidemia é um dos fatores de risco modificáveis mais importantes para a doença cardiovascular, sendo caracterizado pelo aumento das concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol e triglicérides e pela diminuição dos níveis do colesterol–HDL (Franca e Alves, 2006).

No modelo experimental de hiperlipidemia induzida por Triton WR–1339 o extrato hidroalcoólico das folhas (EH) de *S. cumini* mostrou uma ação hipotriglicéridemiante aguda, que foi até melhor que a do controle positivo (ciprofibrato) nas 48 hs após a indução, considerando as doses empregadas. Esse fármaco hipolipemiante produz seu efeito por uma maior expressão gênica da lipoproteína lipase (LPL). Assim, o mecanismo de ação do EH de *S. cumini* pode ser por uma ação semelhante à do ciprofibrato e/ou maior ativação da LPL, por ser a enzima responsável pela hidrólise dos triglicérides (TG) do plasma, a qual se encontra inibida pela ação do Triton WR–1339 (Bhatnagar, 1998).

Da mesma forma que nos TG, o tratamento com EH nas duas doses e com o ciprofibrato reduziram os níveis séricos de colesterol total (CT) nas 24 hs após indução com Triton WR–1339, sendo que nas 48 hs as reduções se mantiveram com uma maior diminuição nos animais administrados com EH do que naqueles tratados com o controle positivo. O efeito hipocolesterolemiante observado pela queda dos níveis de CT pode indicar uma inibição da síntese endógena de colesterol. Síntese que é determinada principalmente pela atividade da HMGCoA–redutase, sugerindo-se uma ação semelhante às estatinas, que se dá por inibição irreversível dessa enzima (Jorge et al., 2005).

Essas ações hipolipemiantes podem ser mais respaldadas pela grande presença de flavonóides encontrados no EH de *S. cumini* (Bezerra et al., 2006), uma vez que vários estudos já comprovaram os efeitos desses compostos no metabolismo lipídico, como demonstrado por Sharma e colaboradores (2008), que utilizaram um extrato rico de flavonóides obtidos das sementes de *S. cumini*, porém, ainda não há relato na literatura utilizando as folhas dessa espécie. Efeitos que podem ser devido a mecanismos já demonstrados por muitos compostos dessa classe fitoquímica, como inibição da HMGCoA–redutase, aumento dos receptores da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e elevação da atividade do sistema microsomal hepático (Kirk et al., 1998; Havsteen, 2002; Oliveira et al., 2002).

O HDL é a lipoproteína responsável pelo transporte reverso do colesterol, promovendo a transferência do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, sendo assim, importante na prevenção de doenças coronarianas (Lima e Couto, 2006). Na avaliação do

efeito agudo do EH em ratos hiperlipidêmicos, não foi observada diferença das concentrações do colesterol–HDL entre os grupos, durante às 72 hs de avaliação (dados não mostrados).

De acordo com Campfield e colaboradores (1998), a eficácia dos novos tratamentos da obesidade pode ser avaliada por seus efeitos no peso corporal. Dessa forma, o tratamento com o EH de *S. cumini* nos animais obesos–MSG mostrou-se favorável no combate à obesidade, nesse modelo experimental, uma vez que reduziu o ganho de peso desses animais a partir da quarta semana até o final do tratamento, nas duas doses utilizadas. Condição também constatada a partir da 15ª semana em ratos não obesos tratados de forma crônica com EH de *S. cumini* na dose de 0,25 g/kg (Silva, 2006).

Segundo a descrição clássica do modelo de obesidade induzida por injeção neonatal com solução de MSG, os animais obesos–MSG apresentam menor evolução ponderal em decorrência da deficiência na síntese/secreção do hormônio do crescimento (GH) (Antoni, et al., 1982). Entretanto, na fase adulta, esses animais apresentam um acúmulo de tecido adiposo hipertrófico por aumento da lipogênese e reduzida mobilização de gordura principalmente no retroperitônio e testículos, como demonstrado nos ratos obesos–MSG deste estudo (Nascimento Curi et al., 1991). Essa adiposidade excessiva se deve a um mecanismo ainda pouco esclarecido de hiperatividade do sistema nervoso autônomo parassimpático com conseqüente hipersecreção de insulina. Este hormônio é capaz de inibir a lipólise, induzir a lipogênese e ainda aumentar a entrada de glicose nos adipócitos, promovendo dessa forma, seu crescimento volumétrico (Rohner-Jeanrenaud, 1995; Okuda, 2003).

O Índice de Lee (IL) é um parâmetro biométrico que apresenta excelente correlação com o acúmulo gordura corporal tanto na fase adulta, quanto na fase de desmame, nos animais com obesidade, devido à lesão hipotalâmica, assim, ele representa para os animais MSG o mesmo que o índice de massa corporal (IMC) para os seres humanos (Bernardis e Patterson, 1968; Stephens, 1980). Os animais MSG/EH 0,5 e 1,0 apresentaram uma redução bastante significativa do IL durante e ao final do tratamento, a qual foi acompanhada por diminuição do acúmulo das gorduras retroperitoneal e periepididimal. Constatando-se um evidente efeito anti-obesidade do EH das folhas de *S. cumini*, o que corrobora com os dados etnofarmacológicos relatados por Dickel et al (2007), onde cita a utilização popular da planta em estudo no combate à obesidade. Mecanismo esse, que pode ser devido a uma maior estimulação do metabolismo lipídico ou menor síntese de lipídios, uma vez que não foi observada alteração no consumo de ração durante todo tratamento.

A hiperglicemia verificada nos animais MSG/CTR já era esperada, visto que Hirata e colaboradores (1997), utilizando o teste de tolerância intravenoso de glicose e a técnica do *clamp*, constataram em ratos obesos, que receberam no período neonatal injeções de MSG (4mg/kg/dia), níveis significativamente maiores de insulina e de glicemia quando comparados com seus controles, manifestando insulino-resistência à captação periférica de glicose. Além do mais, Papa e colaboradores (2002) comprovaram que os transportadores de glicose (GLUT-4) encontram-se em menor quantidade em tecidos sensíveis à insulina dos ratos obesos–MSG. Sendo que o efeito hipoglicemiante apresentado pelo EH pode ser devido a uma maior sensibilização dos receptores de insulina, levando a uma maior expressão do GLUT-4 através da ativação do PI3–quinase, tendo como conseqüência maior captação de glicose, como comprovado por Anandharajan e colaboradores (2006) com o extrato metanólico de *S. cumini*.

Silva (2006) observou reduções nas concentrações séricas de colesterol total e triglicerídeos resultantes do tratamento crônico por 180 dias com o EH da espécie vegetal em estudo em ratos não obesos. Neste estudo, o grupo MSG/CTR apresentou apenas uma hipertrigliceridemia, fato também constatado por Oida e colaboradores (1984) em ratos Wistar. As atividades hipocolesterolêmica e hipotrigliceridêmica do EH de *S. cumini* aliada á manutenção da concentração do HDL, após o tratamento, pode ser de grande importância na

prevenção da formação de placas de ateroma, pois a hiperlipidemia está diretamente relacionado ao processo de aterosclerose (Nakaya, 2002; Siqueira et al., 2006).

Esse trabalho é pioneiro por avaliar o efeito do *Syzygium cumini* em modelos experimentais de hiperlipidemia e obesidade, revelando que as folhas dessa espécie vegetal apresentam efeitos benéficos no metabolismo tanto em animais hiperlipidêmicos induzidos por Triton WR-1339, promovendo reduções das concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol total, como em ratos obesos-MSG, levando a diminuições de peso, depósito de gorduras, lipidemia e glicemia. Apresentando, dessa forma, um grande potencial para a prevenção e tratamento de patologias crônicas e muito frequentes na população como a obesidade, diabetes mellitus e hiperlipidemia. Embora, estudos complementares devam ser realizados no intuito de ratificar seus efeitos benéficos e avaliar possíveis toxicidades.

Agradecimentos

Esse estudo recebeu o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA); assim como, o suporte técnico oferecido pelos Laboratórios de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia e de Fisiologia, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Brasil.

Referências

- Alarcon-Aguilar, F.J. Zamilpa, A. Perez-Garcia, M.D., Almanza-Perez, J.C., Romero-Nuñez, E., Campos-Sepulveda, E.A., Vazques-Carrilo, L.I., Roman-Ramos, R., 2007. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 66–71.
- Anandharajan, R., Jaiganesh, S., Shankernarayanan, N.P., Viswakarma, R.A., Balakrishnan, A., 2006. In vitro glucose uptake activity of *Aegles marmelos* and *Syzygium cumini* by activation of Glut-4, PI3 kinase and PPAR γ in L6 myotubes. *Phytomedicine*, 13, 434–441.
- Antoni, F.A., Kanyicska, B., Mezey E., Makara, G.B., 1982. Neonatal treatment with monosodium L-glutamate: differential effects on growth hormone and prolactin release induced by morphine. *Neuroendocrinology*. 35, 231–235.
- Bernal-Pacheco, O.; Román, G. C., 2007. Environmental vascular risk factors: new perspectives for stroke prevention. *Journal of the Neurological Sciences*, 262, 60–70.
- Bernardis, L.L., Patterson, B. D., 1968. Correlation between ‘Lee Index’ and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology*. 40(4), 527-528.
- Bezerra, J.L.; Costa, G.C.; Lopes, T.C.; Carvalho, I.C.D.S.; Patrício, F.J.; Sousa, S.M.; Amaral, F.M.M.; Rebelo, J.M.; Guerra, R.N.M.; Ribeiro, M.N.S.; Nascimento, F.R.F., 2006. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16(supl.), 631-637, 2006.

- Bhatnagar D., 1998. Lipid-lowering drugs in the management of hyperlipidaemia. *Pharmacology & Therapeutics*, 79(3), 205–230.
- Calapai, G., Firenzuoli, F., Saitta, A., Squadrito, F., Arlotta, M.R., Costantino, G., Infrerra, G., 1999. Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat: a preliminary report. *Fitoterapia*, 70, 586–592.
- Campfield, L.A., Smith, F.J., Burn, P., 1998. Strategies and potential molecular targets for obesity treatment. *Science*, 280, 1383-1387.
- Coimbra, T.C., Danni, F.F., Blotta, R.M., da Periará, C.A., Guedes, M.D., Graf, R.G., 1992. Plants employed in the treatment of diabetes mellitus; results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 63(4), 320–322.
- Cosentino, M.B., Coutinho, M.S.S.A., Nedel, F.B., Luciano, K.S., 2007. Fatores de risco para síndrome coronariana aguda em Tubarão, SC – estudo caso-controlado. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, 36(2), 41–49.
- Dickel, M.L., Rates, S.M.K., Ritter, M.R., 2007. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 60–71.
- Dolnikoff M.S., Kater C. E., Egami, M., Andrade, I. S., Marmo M. R., 1988. Neonatal treatment with Monosodium Glutamate increases plasma corticosterone in the rat. *International Journal for Basic and Clinical Studies on Neuroendocrine Relationships*, 48(6), 645 –649.
- Franca, E., Alves, J.G.B., 2006. Dyslipidemia among adolescents and children from Pernambuco. *Arquivos Brasileiro de Cardiologia*, 87(6), 661–665.
- Freitas, H.C.P., Navarro, F., 2007. O chá verde induz o emagrecimento e auxilia no tratamento da obesidade e suas comorbidades. *Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, 1(2), 16–23.
- Friedwald, W.T., Levy, R., Fredrickson, D.S., 1972. Estimations of serum low-density lipoprotein cholesterol without use of preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*. 18, 499-502.
- Havsteen B.H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther.*, 96, 67–202.
- Hirata, A.E., Andrade, I.S., Vaskevicius, P., Dolnikoff, M.S., 1997. Insulin resistance in MSG-obese rats Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 30(5), 671–678.
- Jorge, P.A.R., Almeida, E.A., Ozaki, M.R., Jorge, M., Carneiro, A., 2005. Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e as aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 84(4), 314–319.

Jung, H., Nam, J., Park, H., Lee, K., Park, K., Kim, W., Choi, J., 2007. The MeOH extract of *Pleurospermum kamtschaticum* and its active component buddlejasaponin (IV) inhibits intrinsic and extrinsic hyperlipidemia and hypercholesterolemia in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 255–261.

Kirk, A.E., Sutherland, P., Wang, S.A., Chat, A., Lebouef, R.C., 1998. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57 Bl/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *Nutrition* 128(4), 954–959.

Lee, I., Lee, J.H., Baek, N., Kim, D., 2005. Antihyperlipidemic effect of crocin isolated from the fructus of *Gardenia jamicoides* and its metabolite crocetin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(11), 2106–2110.

Lima, E.S., Couto, R.D., 2006. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42(3), 13–23.

Lorenzi, H., Matos, F.J.A., 2008. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. 2 ed. São Paulo: Instituto Plantarum.

Mathur, K.S., Singhal, S.S., Sharma, R.D., 1964. Effect of Bengal Gram on experimentally induced high levels of cholesterol in tissues and serum in Albino Rats. *Journal of Nutrition*, 84(8), 201–204.

Migliato, K.F., Baby, A.R., Zague, V., Velasco, M.V.R., Corrêa, M.A., Sacramento, L.V.S., Salgado, H.R.N., 2006. Ação farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 25(2), 310–314.

Nakaya, N., 2002. Hypertriglyceridemia as a cause of atherosclerosis. *Nippon Rinsho.*, 60(5), 860–867.

Nascimento Curi, C.M.O., Marmo, M.R., Egami, M., Ribeiro, E.B., Andrade, I.S., Dolnikoff, M.S., 1991. Effect of monosodium glutamate treatment during neonatal development on lipogenesis rate and lipoprotein lipase activity in adult rats. *IUBMB Life*, 24(5), 927–935.

Oh, P., Lee, S., Lim, K., 2006. Hypolipidemic and antioxidative effects of the plant glycoprotein (36 kDa) from *Rhus verniciflua* stokes fruit in Triton Wr – 1339 – induced hyperlipidemic mice. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70(2), 447 – 456.

Oida, K., Nakai, T., Hayashi, T., Miyabo, S., Takeda, R., 1984. Plasma lipoproteins of monosodium glutamate-induced obese rats. *International Journal of Obesity* 8, 385–391.

Okuda, H., 2003. Obesity and diabetes: Pathophysiological mechanisms and therapeutic approaches. *Experimental Biology and Medicine*, 228: 1250–1255.

Oliveira, J., Bertolami, M.C., Abdalla, D.S.P., 2001. Effect of vitamin E on anti-LDLox antibodies in atherosclerotic patients. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 37, supl. 1:32.

- Oliveira, T.T., Gomes, S.M., Nagem, T.J., Costa, N.M.B., Secom, P.R., 2002. Efeitos de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. *Revista de Nutrição* 15(1), 45–51.
- Ono, Y., Hattori, E., Fukaya, Y., Imai, S., Ohizumi, Y., 2006. Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 238–244.
- Papa, P.C., Vargas, A.M., Silva, J.L.T., Nunes, M.T., Machado, U.F., 2002. GLUT4 protein is differently modulated during development of obesity in monosodium glutamate-treated mice. *Life Sciences*, 71, 1917–1928.
- Pereira, L.O., Francischi, R. P., Lancha Jr, A. H., 2003. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 47(2), 111–127.
- Pérez, C., Canal, J.R., Romero, A., Torres, M.D., 1999. Experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia in rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 86, 57–68.
- Pi – Sunyer, F.Xavier., 2002. The obesity epidemic: pathophysiology and consequences of obesity. *Obesity research* 10 (2), 97 – 104.
- Prince, P.S.M., Kamalakkannan, N., Menon, V.P., 2004. Antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of alcoholic *Syzygium cumini* seeds in alloxan induced diabetic albino rats. *Journal of Ethnopharmacology* 91, 209—213.
- Ravi, K., Rajasekaran, S., Subramanian, S., 2005. Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical Toxicology* 43(9), 1433–1439.
- Rique, A.B.R., Soares, E.A., Meireles, C.M., 2002. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. *Revista Brasileira Médica Esporte*, 8(6), 244–254.
- Rohner-Jeanrenaud, F. A., 1995. Neuroendocrine reappraisal of the dual-centre hypothesis: its implications for obesity and insulin resistance. *International Journal of Obesity*, 19, 517–534.
- Sharma, B., Balomajumder, C., Roy, P., 2008. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 46(7), 2376–2383.
- Sharma, S.B., Nasir, A., Prabhu, K.M., Murthy, P.S., Dev, G., 2003. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxon- induced diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* 85, 201–206 .
- Silva, R. M., Santos, F. A., Maciel, M. A., Pinto, A. C., Rao, V. S., Effect of trans-dehydrocrotonin, a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara* on experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia induced by Triton WR 1339 (Tyloxapol) in mice. *Planta Medica*, 67, 763–765, 2001.
- Silva, S.N. The toxicity evaluation of *Syzygium jambolanum* D.C. Chronic toxicity of *Syzygium jambolanum* D.C. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2006.

Siqueira, A.F.A., Abdalla, D.S.P., Ferreira, S.R.G., 2006. LDL: da síndrome metabólica à instabilização da placa aterosclerótica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 50(2), 334–343.

Stephens, D.N., 1980. Does the Lee obesity index measure general obesity? *Physiology and Behavior*. 25(2), 313–315.

Teixeira, C.C., Pinto, L.P., Kessler, F.H., Fuchs, F.D., 1997. The effect of *Syzygium cumini* (L) skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology* 56, 209–213.

Villaseñor, I.M., Lamadrid, M.R.A., 2006. Comparative anti-hyperglycemic potentials of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 104, 129–131.

Xie, W., Wang, W., Su, H., Xing, D., Cai, G., Du, L., 2007. Hypolipidemic mechanisms of *Ananas comosus* L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins. *Journal of Pharmacological Sciences*, 103, 267–274.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Syzygium cumini* em ratos hiperlipidêmicos induzidos por Triton WR – 1339 promoveu efeito hipolipemiante sobre os níveis séricos de triglicerídios e colesterol total.

A administração oral do EH em ratos obesos – MSG durante oito semanas resultou em:

- Efeito anti – obesidade com reduções do ganho de peso, índice de Lee e das gorduras retroperitoneal e periepididimal;
- Efeito hipoglicemiante, o qual foi maior na dose de 1,0 g/kg;
- Redução das concentrações plasmáticas de colesterol total e triglicerídios;
- Não alteração das concentrações séricas do colesterol-HDL e colesterol-LDL.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n.2, p. 113-123, 2001.
- ALARCON-AGUILAR, F. J. et al. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 1, p. 66-71, 2007.
- ALBERTON, J. R. et al. Caracterização farmacognóstica do jambolão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 11, n. 1, p. 37-50, 2001.
- ALBUQUERQUE U. P.; HANAZAKI N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 678-689, 2006.
- ALLAIN, C. C. et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.
- ANANDHARAJAN, R. et al. In vitro glucose uptake activity of *Aegles marmelos* and *Syzygium cumini* by activation of Glut-4, PI3 kinase and PPAR γ in L6 myotubes. **Phytomedicine**, v. 13, n. 6, p. 434-441, 2006.
- ANTONI, F. A. et al. Neonatal treatment with monosodium L-glutamate: differential effects on growth hormone and prolactin release induced by morphine. **Neuroendocrinology**, v. 35, n. 4, p. 231-235, 1982.
- BAKKE, J. L. et al. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. **Neuroendocrinology**, v. 26, n. 4, p. 220-228, 1978.
- BALBO, S. L. et al. Insulin secretion and acetylcholinesterase activity in monosodium L – glutamate – induced obese mice. **Hormone Research**, v. 54, n. 4, p. 186-191, 2000.
- BERNAL-PACHECO, O.; ROMÁN, G. C. Environmental vascular risk factors: new perspectives for stroke prevention. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 262, p. 60-70 , 2007
- BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between ‘Lee Index’ and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527 – 528, 1968.
- BEZERRA, J. L. et al. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16(supl.), p. 631-637, 2006.
- BHATNAGAR, D. Lipid-lowering drugs in the management of hyperlipidaemia. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 79, n. 3, p. 205-230, 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS**. Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. Espécies vegetais. 2009. Disponível em: < <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf> >. Acesso em: 14 set. 2009.

- BRITO, F. A. et al. Pharmacological study of anti-allergic activity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 1, p. 105–115, 2007.
- BUCOLO, G.; DAVID, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. **Clinical Chemistry**, v. 19, n. 5, 476–482, 1973.
- CALAPAI, G. et al. Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat: a preliminary report. **Fitoterapia**, v. 70, n. 6, p. 586–592, 1999.
- CAMPFIELD, L. A.; SMITH, F. J.; BURN, P. Strategies and potential molecular targets for obesity treatment. **Science**, v. 280, n. 5368, p. 1383 – 1387, 1998.
- CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN Jr, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.50, n. 2, p. 190 – 197, 2006.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A., FERRIER, D. R., **Bioquímica ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 1, p. 105–108, 2004.
- CHATURVEDI, A. et al. Ulcer healing properties of ethanolic extract of *Eugenia jambolana* seed in diabetic rats: study on gastric mucosal defensive factors. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 53, n. 1, p. 16–24, 2009.
- CHAUDHUEI, A. K. N. et al. Antiinflammatory and related actions on *Syzygium cumini* seed extract. **Phytotherapy Research**, v. 4, p. 5–10, 1990.
- CIRQUEIRA, R. T.; ALVES, M. J. Q. F. Efeitos hipotensivo e diurético dos extratos aquosos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) em ratos normotensos anestesiados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 2, p. 86–91, 2005.
- COIMBRA, T. C. et al. Plants employed in the treatment of diabetes mellitus; results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. **Fitoterapia**, v. 63, n. 4, p. 320–322, 1992.
- CORONELLI, C. L. S.; MOURA, E. C. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. **Revista Saúde Pública**, v. 37, n. 1, p. 24–31, 2003.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984.
- COSENTINO, M. B. et al. Fatores de risco para síndrome coronariana aguda em Tubarão, SC – estudo caso-controle. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 36, n. 2, p. 41–49, 2007.
- DAI, S.; MCNEILL, J. H. Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. **J Pharmacol Toxicol Methods.**, v. 33, n. 2, p. 101–107, 1995.
- DAMASCENO DC. et al. Avaliação do efeito hipoglicemiante da sapogenina extraída de sementes de *Eugenia jambolana* Lam. **Rev Bras Plantas Med.**, v. 4, p. 46–54, 2002.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M. K.; RITTER, M. R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brasil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, p. 60–71, 2007.

DOLNIKOFF, M. S. et al. Neonatal treatment with Monosodium Glutamate increases plasma corticosterone in the rat. **International Journal for Basic and Clinical Studies on Neuroendocrine Relationships**, v. 48, n. 6, p. 645–649, 1988.

EVEREST, A.; OZTURK, E. Focusing on the ethnobotanical uses of plants in Mersin and Adana provinces (Turkey). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 1, n. 6, p. 1–6, 2005.

FERRO, E. et al. *Eugenia uniflora* leaf extract and lipid metabolism in Cebus paella monkeys. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 24, n. 2, p. 321–325, 1988.

FILHO, G. B.. **Bogliolo Patologia**. 6. ed. Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan, 2000.

FRANCA, E.; ALVES, J. G. B. Dyslipidemia among adolescents and children from Pernambuco. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v. 87, n. 6, p. 661–665, 2006.

FREITAS, H. C. P.; NAVARRO, F. O chá verde induz o emagrecimento e auxilia no tratamento da obesidade e suas comorbidades. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1, n. 2, p. 16–23, 2007.

FRIMAN, S. et al. Erythrocytosis after renal transplantation. Treatment by removal of the native kidneys. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 5, n. 11, p. 969–973, 1990.

GHOSH, K. et al. Studies on anti-inflammatory and antipyretic activities of *Syzigium cumini* Linn, seeds. **IRCS Medical Science Biochemistry**, v. 13, n. 4, 340–341, 1985.

HART, S.; NOLTE, I. Long-term treatment of diseased, FIV - seropositive field cats with Azidothymidine (AZT). **J. Vet. Med. Series A.**, v. 42, n. 6, p. 397–409, 1995.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 96, n. 2–3, p. 67–202, 2002.

HILL, J. O. et al. Obesity and the environment: where do we go from here? **Science**, v. 299, n. 5608, p. 853–855, 2003.

HIRATA, A. E. et al. Insulin resistance in MSG-obese rats Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, n. 5, p. 671–678, 1997.

HOLZWARTH-MCBRIDE, M. A.; HURST, E. M.; KNIGGE, K. W. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. I. Endocrine deficiency and ultrastructure of the median eminence. **Anat. Rec.**, v. 186, n. 2, p. 185–205, 1976.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, p. 60-61, 2003.

INDIRA, G.; MOHAN RAM, M. **Fruits**. National Institute of Nutrition, Indian Council of Medical Research, Hyderabad, India, p. 34–37, 1992.

IWASE, M. et al. Obesity induced by neonatal monosodium glutamate treatment in spontaneously hypertensive rats: an animal model of multiple risk factors. **Hypertension Research**, v. 21, n. 1, p. 1–6, 1998.

JAHROMI, M. A. F.; RAY, A. B. Antiherlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 7, 989–994, 1993.

JAMES, P. T., LEACH, R., KALAMARA, E., SHAYEGHI, M. The worldwide obesity epidemic. **Obesity Research**, v. 9, n. 4, 228S–233S, 2001.

JORGE, P. A. R. et al. Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e as aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, n. 4, p. 314–319, 2005.

JUNG, H. et al. The MeOH extract of *Pleurospermum kamtschaticum* and its active component buddlejasaponin (IV) inhibits intrinsic and extrinsic hyperlipidemia and hypercholesterolemia in the rat. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p. 255–261, 2007.

KATAKAM, P. V.; UJHELYI, M. R.; HOENIG, M. E.; MILLER, A. W. Endothelial dysfunction precedes hypertension in diet-induced insulin resistance. **Am J Physiol.**, v. 275, n. 3, p. R788-792, 1998.

KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**, v. 145, n. 2, p. 548–555, 2004.

KIRK, A. E. et al. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57 Bl/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. **Nutrition**, v. 128, n. 4, p. 954–959, 1998.

KUMAR, K.E. et al. Anti-arthritic property of the methanolic extract of *Syzygium cumini* seeds. **International Journal of Integrative Biology**, v. 4, n.1, p. 55–61, 2008.

KUSUMOTO, I. T. et al. Screening of various plant extracts used in Ayurvedic medicine for inhibitory effects on human immunodeficiency virus type I (HIV-I) protease. **Phytotherapy Research**, v. 9, n. 3, p. 180–184, 1995.

LAINETTI, R. B.; BRITO, N. R. S. **A cura pelas ervas e plantas medicinais brasileiras**. Rio de Janeiro: TecnoPrint, p. 165, 1979.

LARINI, L. **Toxicologia**, São Paulo: Manole, 1997.

LEE, I. Antihyperlipidemic effect of crocin isolated from the fructus of *Gardenia jaminoides* ana its metabolite crocetin. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 11, p. 2106–2110, 2005.

LEVINE, S.; SALTZMAN. A. A procedure for inducing sustained hyperlipemia in rats by administration of a surfactant. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 55, n. 2, p. 224–226, 2007.

- LIMA, E. S., COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 3, p. 13–23, 2006.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.
- LÜLLMANN, H. et al. **Farmacologia: texto e atlas**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.
- LUND, J. E. Toxicologic effects on blood and bone marrow. In: Feldman, B.F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 44 - 50.
- MACIEL, M. C. G. et al. *Syzygium jambolanum* treatment improves survival in lethal sepsis induced in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 57, p. 1–7, 2008.
- MAHAPATRA, P. K. et al. Preliminary studies on glycemic effect of *Syzygium cumini* seeds. **IRCS Medical Science Biochemistry**, v. 3, n. 7, p. 631–632, 1985.
- MAHMOUD, I. I. et al. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. **Phytochemistry**, v. 58, n. 8, p. 1239–1244, 2001.
- MANCINI, M. C., HALPERN, A. Tratamento farmacológico da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 5, p. 497–513, 2002.
- MARTIN, D. W. et al. In: **Harper's Review of Biochemistry**. California: Lange Medical, 1981.
- MARTÍNEZ, J. A.; FRUHBECK, G. Regulation of energy balance and adiposity: a model with new approaches. **Rev. Esp. Fisiol.**, v. 52, n. 4, p. 255 – 258, 1996.
- MARTINS, A. C. P. et al. Monosodium L-glutamate – induced obesity impaired the adrenal medullae activity. **Neuroscience Research Communications**, v. 28, n. 1, p. 49–58, 2001.
- MATHUR, K. S.; SINGHAL, S. S.; SHARMA, R. D. Effect of bengal gram on experimentally induced high levels of cholesterol in tissues and serum in albino rats. **Journal of Nutrition**, v. 84, n. 8, p. 201–204, 1964.
- MIGLIATO, K. F. et al. Ação farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 2, p. 310–314, 2006.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigitel Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasil, 2009. Disponível em: <http://189.28.128.100/portal/arquivos/pdf/VIGITEL2008_web.pdf>. Acesso em: 30 de junho de 2009.
- MORO, C. O.; BASILE, G. Obesity and medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 71, n. 1, S73 –S82, 2000.
- MURUGANANDAN S. et al. Antiinflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. **Fitoterapia**, v. 72, n. 4, p. 369–375, 2001.

NAGATA, M. et al. Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induced by monosodium glutamate. **Experimental animals**, v. 55, n. 2, p. 109 – 115, 2006.

NAGEM, T. J. et al. Efeito de flavonóides sobre lipídeos em ratos e sobre enzimas metabolizadoras de drogas. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 37, n. 3, p. 471–482, 1994.

NAGEM, T. J. et al. Efeitos de derivados flavonoídicos sobre lipídeos em ratos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 38, n 3, p. 859 – 868, 1995.

NAKAYA, N. Hypertriglyceridemia as a cause of atherosclerosis. **Nippon Rinsho.**, v. 60, n. 5, p. 860–867, 2002.

NASCIMENTO CURTI, C. M. O. et al. Effect of monosodium glutamate treatment during neonatal development on lipogenesis rate and lipoprotein lipase activity in adult rats. **IUBMB Life**, v. 24, n. 5, p. 927–935, 1991.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 2003.

OH, P.; LEE, S.; LIM, K. Hypolipidemic and antioxidative effects of the plant glycoprotein (36 kDa) from *Rhus verniciflua* stokes fruit in Triton Wr – 1339 – induced hyperlipidemic mice. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 70, n. 2, p. 447 – 456, 2006.

OIDA, K. et al. Plasma lipoproteins of monosodium glutamate-induced obese rats. **International Journal of Obesity**, v. 8, n. 5, p. 385–391, 1984.

OKUDA, H. Obesity and diabetes: pathophysiological mechanisms and therapeutic approaches. **Experimental Biology and Medicine**, v. 228, p. 1250–1255, 2003.

OLIVEIRA, J.; BERTOLAMI, M. C.; ABDALLA, D. S. P. Effect of vitamin E on anti-LDL-OX antibodies in atherosclerotic patients. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 1, 2001.

OLIVEIRA, T. T. et al. Efeitos de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 45–51, 2002.

OLNEY, J. W. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. **Science**, v. 164, n. 3880, p. 719–721, 1969.

ONO, Y., et al. Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, n. 2, p. 238–244, 2006.

PAPA, P. C. et al. GLUT4 protein is differently modulated during development of obesity in monosodium glutamate-treated mice. **Life Sciences**, v. 71, n. 16, p. 1917–1928, 2002.

PEPATO, M. T. et al. Lack of antidiabetic effect of a *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n.3, p. 389–395, 2001.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHA JR, A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 47, n. 2, p. 111–127, 2003.

PÉREZ, C. et al. Experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia in rats. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 86, n. 1, p. 57–68, 1999.

PI – SUNYER, F. X. The obesity epidemic: pathophysiology and consequences of obesity. **Obesity research**, v. 10, n. 2, p. 97 – 104, 2002.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1984

PRINCE, P. S. M.; KAMALAKKANNAN, N.; MENON, V. P. Antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of alcoholic *Syzygium cumini* seeds in alloxan induced diabetic albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 2–3, p. 209—213, 2004.

PRINCE, P. S. M.; MENON, V. P.; PARI, L. Hypoglycemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 1–7, 1998.

RAVEL, R. **Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

RAVI, K.; RAMACHANDRAN, B.; SUBRAMANIAN, S. Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Life Sciences**, v. 75, n. 22, p. 2717–2731, 2004.

RAVI, K.; RAJASEKARAN, S.; SUBRAMANIAN, S. Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 9, p. 1433–1439, 2005.

RÊGO, T. J. A. S. **50 chás medicinais da flora do Maranhão**. 4. ed. São Luís: EDUFMA, 1995.

REMKE, H., WILSDORF, A., MULLER, F. Development of hypothalamic obesity in growing rats. **Exp Pathol.**, v. 33, n. 4, p. 223–232, 1988.

RIQUE, A. B. R.; SOARES, E. A.; MEIRELES, C. M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira Médica Esporte**, v. 8, n. 6, p. 244–254, 2002.

ROHNER-JEANRENAUD, F. A. Neuroendocrine reappraisal of the dual-centre hypothesis: its implications for obesity and insulin resistance. **International Journal of Obesity**, v. 19, n. 8, p. 517–534, 1995.

ROOS, N.; OLIVEIRA, J. E. P.; CORDEIRO, J. G. H; Aterosclerose, papel do colesterol e triglicerídios. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 56, n. 3, p. 61–75, 1989.

RUAN, Z. P.; ZHANG, L. L.; LIN, Y. M. Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves. **Molecules**, v. 13, n. 10, p. 2545–2556, 2008.

SANTOS, R. D. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 77, suppl. 3, p. 1- 175, 2001.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. et al. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 21, n. 2, p. 183–186, 1987.

SHARMA, B.; BALOMAJUMDER, C.; ROY, P. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 7, p. 2376–2383, 2008.

SHARMA, S.B. et al. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan- induced diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology** v. 85, n. 2–3, p. 201—206, 2003.

SILVA, A. C. M. **Obesidade hipotalâmica induzida por glutamato monossódico: alterações pancreáticas**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 1995.

SILVA, R. M. et al. Effect of trans-dehydrocrotonin, a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara* on experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia induced by Triton WR 1339 (Tyloxapol) in mice. **Planta Medica**, v. 67, n. 8, p. 763–765, 2001.

SILVA, S. N. **The toxicity evaluation of *Syzygium jambolanum* D.C. Chronic toxicity of *Syzygium jambolanum* D.C.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2006.

SIQUEIRA, A. F. A.; ABDALLA, D. S. P.; FERREIRA, S.R.G. LDL: da síndrome metabólica à instabilização da placa aterosclerótica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 334–343, 2006.

SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Antiinflammatory activity of leaf extracts of *Eugenia jambos* on rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 9–11, 1994.

SOARES, J. C. M.; COSTA, S. T.; CECIM, M. Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com *diabetes mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 113–118, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). **Atlas corações do Brasil**. v.1, 2006. Disponível em: <<http://prevencao.cardiol.br/campanhas/coracoedobrasil/atlas/default.asp>>. Acesso em: 19 out. 2009.

SPOSITO, A. C. et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, supl. 1, p. 2 – 18, 2007.

STANELY MAINZEN PRINCE, P.; MENON, V. P. Effect of *Syzygium cumini* in plasma antioxidants on alloxan-induced diabetes in rats. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 81–86, 1998.

STANELY MAINZEN PRINCE, P.; MENON, V. P. Hypolipidaemic effect of *Syzygium cumini* (Jamun) seeds in alloxan diabetic rats. **Medical Science Research**, v. 25, n. 12, p. 819–821, 1997.

STEPHENS, D. N. Does the Lee obesity index measure general obesity? **Physiol Behav.**, v. 25, n. 2, p. 313 – 315, 1980.

TEIXEIRA, C. C. et al. The effect of *Syzygium cumini* (L) skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, n. 3, p. 209–213, 1997.

TIMBOLA, A. K. et al. A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*. **Fitoterapia**, v. 73, n. 2, 174 – 176, 2002.

VIJAYALAKSHMI, T. et al. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottai nei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 1, p. 9 – 15, 2000.

VIKRANT, V. et al. Treatment with extracts of *Momordica charantia* and *Eugenia jambolana* prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 2, p. 139–143, 2001.

VILLASEÑOR, I. M.; LAMADRID, M. R. A. Comparative anti-hyperglycemic potentials of medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, n. 1–2, p. 129–131, 2006.

WEISS, D. J.; KLAUSNER, J. S. Drug associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 196, n. 3, p. 472–475, 1990.

XIE, W. et al. Hypolipidemic mechanisms of *Ananas comosus* L. leaves in mice: different from fibrates bur similar to statins. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 103, n. 3, p. 267–274, 2007.

ZARONI, M. et al. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 29–39, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Partes aéreas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels: flores (A) e folhas e frutos (B)

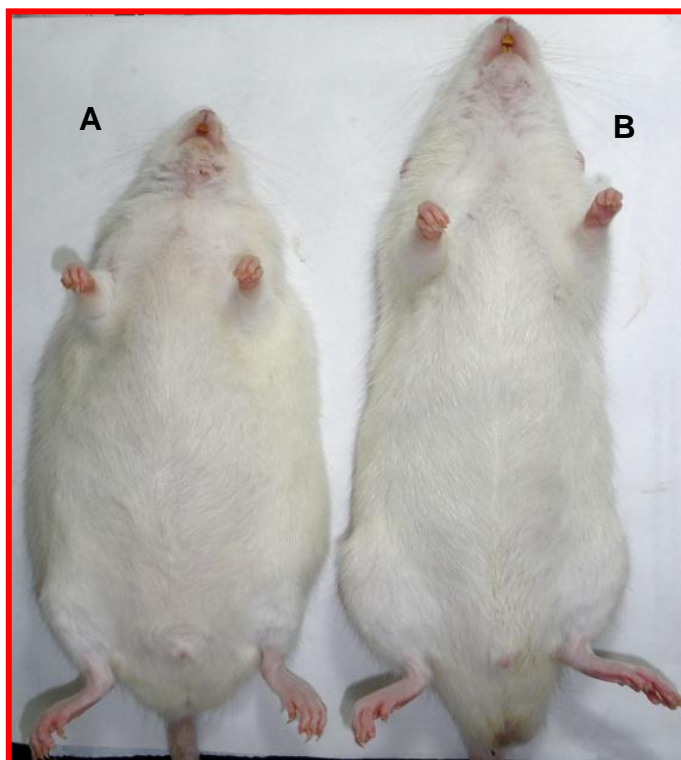
A



B



APÊNDICE B – Rato obeso-MSG (A) e rato controle (B)



ANEXO A – Instruções para autores do periódico journal ethnopharmacology

Guide for Authors

An Interdisciplinary Journal Devoted to Indigenous Drugs The Official Journal of the International Society for Ethnopharmacology

INTRODUCTION - The "rules of 5" - Types of paper

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in Publishing - Policy and ethics - Conflict of interest - Submission declaration – Copyright - Retained author rights - Role of the funding source - Funding body agreements and policies - Language Services - Submission - Additional information

PREPARATION

Language - Use of wordprocessing software - Article structure - Subdivision - numbered sections - Introduction - Material and methods - Theory/calculation - Results - Discussion - Conclusions - Glossary - Appendices - Essential title page information - Abstract - Keywords - Acknowledgements - Math formulae - Footnotes - Electronic artwork - - Color artwork - Figure captions - Tables - References - Citation in text - Reference style - Supplementary material - Submission checklist

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier - Proofs - Offprints

AUTHOR INQUIRIES

INTRODUCTION

The *Journal of Ethnopharmacology* is dedicated to the exchange of information and understandings about people's use of plants, fungi, animals, microorganisms and minerals and their biological and pharmacological effects based on the principles established through international conventions. Early people, confronted with illness and disease, discovered a wealth of useful therapeutic agents in the plant and animal kingdoms. The empirical knowledge of these medicinal substances and their toxic potential was passed on by oral tradition and sometimes recorded in herbals and other texts on *materia medica*. Many valuable drugs of today (e.g., atropine, ephedrine, tubocurarine, digoxin, reserpine) came into use through the study of indigenous remedies. Chemists continue to use plant-derived drugs (e.g., morphine, taxol, physostigmine, quinidine, emetine) as prototypes in their attempts to develop more effective and less toxic medicinals.

The "rules of 5"

The Editors and Editorial Board have developed the "Rules of 5" for publishing in JEP. We have produced five clear criteria that each author needs to think about before submitting a manuscript and setting the whole process of editing and reviewing at work. [Click here.](#)

Types of paper

The *Journal of Ethnopharmacology* will accept the following contributions:

1. Original research articles - whose length is not limited and should include Title, Abstract, Methods and Materials, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements and
2. References. As a guideline, a full length paper normally occupies no more than 10 printed pages of the journal, including tables and illustrations.
3. Ethnopharmacological communications (formerly Short Communications) - whose average length is not more than 4 pages in print (approx. 2000-2300 words, including abstract and references). A maximum of 2 illustrations (figures or tables) is allowed. See paragraph below for description and format.
4. Letters to the Editors.

Reviews - Authors intending to write review articles should consult and send an outline to the Reviews Editor (see inside front cover for contact information) before preparing their manuscripts. The organization and subdivision of review articles can be arranged at the author's discretion. Authors should keep in mind that a good review sets the trend and direction of future research on the subject matter being reviewed. Tables, figures and references are to be arranged in the same way as research articles in the journal. Reviews on topics that address cutting-edge problems are particularly welcome.

5. Book reviews - Books for review should be sent to the Reviews Editor.
6. Commentaries - *invited*, peer-reviewed, critical discussion about crucial aspects of the field but most importantly methodological and conceptual-theoretical developments in the field and should also provide a standard, for example, for pharmacological methods to be used in papers in the *Journal of Ethnopharmacology*. The scientific dialogue differs greatly in the social / cultural and natural sciences, the discussions about the common foundations of the field are ongoing and the papers published should contribute to a transdisciplinary and multidisciplinary discussion. The length should be a maximum of 2-3 printed pages or 2500 words. Please contact the Reviews Editor j.ethnopharmacol@pharmacy.ac.uk with an outline.
7. Conference announcements and news.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in Publishing

For information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Policy and ethics

In the covering letter, the author must also declare that the study was performed according to the international, national and institutional rules considering animal experiments, clinical studies and biodiversity rights. See below for further information. The ethnopharmacological importance of the study must also be explained in the cover letter.

Animal and clinical studies - Investigations using experimental animals must state in the Methods section that the research was conducted in accordance with the internationally accepted principles for laboratory animal use and care as found in for example the European Community guidelines (EEC Directive of 1986; 86/609/EEC) or the US guidelines (NIH publication #85-23, revised in 1985). Investigations with human subjects must state in the Methods section that the research followed guidelines of the Declaration of Helsinki and Tokyo for humans, and was approved by the institutional human experimentation committee or equivalent, and that informed consent was obtained. The Editors will reject papers if there is any doubt about the suitability of the animal or human procedures used.

Biodiversity rights - Each country has its own rights on its biodiversity. Consequently for studying plants one needs to follow the international, national and institutional rules concerning the biodiversity rights.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the paper for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language Services

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com/> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by

outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal (<http://www.elsevier.com/journals>) you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's homepage, removing the need for a hard-copy paper trail.

Additional information

Authors who want to submit a manuscript should consult and peruse carefully recent issues of the journal for format and style. Authors must include the following contact details on the title page of their submitted manuscript: full postal address; fax; e-mail. All manuscripts submitted are subject to peer review. The minimum requirements for a manuscript to qualify for peer review are that it has been prepared by strictly following the format and style of the journal as mentioned, that it is written in good English, and that it is complete. Manuscripts that have not fulfilled these requirements will be returned to the author(s).

In addition, you are recommended to adhere to the research standards described in the following articles:

Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, et al. *Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'*. J Ethnopharmacol 2006, 106: 290-302.

Matteucci, E., Giampietro, O. *Proposal open for discussion: defining agreed diagnostic procedures in experimental diabetes research*. J Ethnopharmacol 2008,115: 163-172.

T.SA. Froede and Y.S. Medeiros *Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity*. J Ethnopharmacol 2008, 115: 173-183.

PREPARATION

Language

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Use decimal points (not decimal commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text". Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Glossary

Please supply, as a separate list, the definitions of field-specific terms used in your article.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on.

Essential title page information

Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.

Corresponding author. Clearly indicate who is willing to handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately

from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.

- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:
<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics". TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi. TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is"

Please do not:

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Please note that figures and tables should be embedded in the text as close as possible to where they are initially cited. It is also mandatory to upload separate graphic and table files as these will be required if your manuscript is accepted for publication.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color in print or on the Web only. For further

information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to "gray scale" (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either "Unpublished results" or "Personal communication" Citation of a reference as "in press" implies that the item has been accepted for publication.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
 2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
 3. *Three or more authors:* first author's name followed by "et al." and the year of publication.
- Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, 1996b, 1999; Allan and Jones, 1995). Kramer et al. (2000) have recently shown"

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

Please use full journal names.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2000. The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communication*. 163, 51-59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 1979. *The Elements of Style*, third ed. Macmillan, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com/>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. Video files: please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your supplementary information. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com/>.

AFTER ACCEPTANCE***Use of the Digital Object Identifier***

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):
doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends

PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit this journal's homepage. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle> and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)