

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Avaliação do efeito do extrato aquoso e da fração fenólica livre do Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estado antioxidante e o perfil lipídico em ratos com hipercolesterolemia induzida pela dieta

Milessa da Silva Afonso

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Jorge Mancini Filho

São Paulo
2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**Avaliação do efeito do extrato aquoso e da fração fenólica
livre do Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estado
antioxidante e o perfil lipídico em ratos com
hipercolesterolemia induzida pela dieta**

Milessa da Silva Afonso

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Jorge Mancini Filho

São Paulo
2010

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

A257a	<p>Afonso, Milessa da Silva</p> <p>Avaliação do efeito do extrato aquoso e da fração fenólica livre do alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) sobre o estado antioxidante e o perfil lipídico em ratos com hipercolesterolemia induzida pela dieta / Milessa da Silva Afonso. -- São Paulo, 2010. 83p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.</p> <p>Orientador: Mancini Filho, Jorge</p> <p>1. Nutrição experimental: Ciência dos alimentos 2. Alimentos funcionais: Ciência dos alimentos 3. Antioxidante: Ciência dos alimentos 4. Hipercolesterolemia : Doenças I. T. II. Mancini Filho, Jorge, orientador.</p> <p style="text-align: right;">641.1 CDD</p>
-------	---

Milessa da Silva Afonso

**Avaliação do efeito do extrato aquoso e da fração fenólica
livre do Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estado
antioxidante e o perfil lipídico em ratos com
hipercolesterolemia induzida pela dieta**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

1º. examinador
Prof. Dr. Jorge Mancini Filho
Orientador/Presidente

2º. examinador

3º. examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2010

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Antônio e Maria Luiza
e familiares pelo incentivo e apoio
incondicionais à minha formação.*

*"A grande face da pesquisa deve ser
o semblante da humanidade"*

Milessa da Silva Afonso

AGRADECIMENTOS

Agradecimento primordial a Deus que esteve, está e sempre estará abençoando meu caminho;

Aos meus queridos pais, Antônio Benedicto Afonso e Maria Luiza da Silva Afonso por serem sempre minha fortaleza, por me mostrarem que a honestidade, a humildade, a saúde, o amor e a amizade são os maiores tesouros do ser humano;

Às minhas irmãs Jacira e Melissa por me proporcionar brilho, alegria e confiança tão espetaculares;

Às minhas lindas sobrinhas Cecília e Raissa por trazerem o sorriso doce e sincero da infância;

Aos meus cunhados Júnior e Macota por me darem apoio no caminho escolhido;

Às orações e conselhos da minha querida madrinha Benedita e da minha vovó Aparecida;

Ao Prof. Dr. Jorge Mancini Filho por me ensinar a amar a ciência cada dia mais e por ser mais que um orientador, um amigo, um pai e principalmente, um conselheiro;

À minha mãe científica Profa. Dra. Léa Sílvia Sant'Ana pelos conselhos e pelo "colo";

Aos professores doutores Marcelo Macedo Rogero e Sílvia Berlanga de Moraes Barros pelo apoio durante minha caminhada científica;

Aos professores doutores Eduardo Purgatto e Elizabete Wenzel de Menezes pelo aprendizado durante o estágio supervisionado em Bromatologia;

À Rosângela Pavan pelos momentos de alegria, risadas e sufocos;

As queridas Rose e Suzi por estarem sempre prontas a me ajudar;

À Elaine e ao Jorge, da secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pelas orientações e pela amizade;

A todos os amigos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e do Instituto de Química que direta ou indiretamente me auxiliaram durante a caminhada do mestrado;

Ao pessoal do Biotério de Experimentação Animal, do Comitê de Ética, dos Departamentos de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica e de Análise de Alimentos (FCF-USP), de Bioquímica (IQ-USP), da biblioteca, tesouraria e da informática pelo suporte técnico durante meu trabalho;

Aos “secretários-amigos” Edílson, Mônica e Cléo pela atenção, eficiência e pelos momentos de risada;

Às queridas Joana e Lurdinha pelo carinho e companheirismo incondicional;

Sem palavras para agradecer aos meus irmãos de São Paulo: Alexandra Tavares de Melo (Alê), Cleverson Busso (Clevim); Liliane Pires (Lila); Sandra Mara de Andrade (Sandrex);

Aos queridos amigos do laboratório de lípidos Ana Mara, Claudimar, Eliane, Felipe, Fernanda, Gabriela, Illana, Lucillia, Mahyara e Paula por serem meus companheiros e me mostrarem a cada dia o quanto é bom fazer ciência em um ambiente agradável com amizades memoráveis;

Aos amigos do CRUSP que conviveram comigo durante esses dois anos de trabalho;

Aos companheiros de apartamento e irmãos de coração Antônio Sales e Jairo por me darem conselhos nos momentos tristes e alegres;

À assistente social Lucimara e a todo pessoal do COSEAS pelo apoio irrestrito;

Ao querido amigo Diogo Rivelli e a todo o pessoal do Laboratório de Patologia (Bloco 17) por me receberem sempre tão bem e não medirem esforços para me auxiliar;

Aos alunos, funcionários e professores do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental pela amizade e apoio inesquecíveis;

À Neuza Hassimoto por ser uma amiga sem limites e estar sempre disposta a me escutar e acalantar;

À Ivanir (mãezona) por estar sempre ao meu lado, me escutando e me dando força;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro processos 08/54319-0 e 08/51333-1.

Nomes são muitos para serem lembrados e tentar cita-los abre uma boa oportunidade para o esquecimento. Por isso, agradeço de coração todos aqueles que estiveram ao meu lado!

Obrigada por tudo!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IV
LISTA DE REAGENTES	VII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT	X
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Metabolismo do colesterol	3
2.2 Hipercolesterolemia	7
2.3 Hipercolesterolemia e estresse oxidativo.....	9
2.4 Mecanismos antioxidantes.....	15
2.5 Antioxidantes na hipercolesterolemia.....	17
2.6 Compostos fenólicos.....	18
2.7 Alecrim como fonte antioxidante.....	21
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral.....	24
3.2 Objetivos específicos	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Amostras.....	25
4.1.1 Obtenção dos extratos aquosos de alecrim.....	25
4.1.2 Obtenção dos ácidos fenólicos presentes no alecrim.....	25
4.1.3 Determinação dos fenólicos totais.....	26
4.2 Identificação dos ácidos carnósico e rosmarínico.....	27
4.3 Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	27
4.3.1 Atividade antioxidante no sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	27
4.3.2 Atividade antioxidante no ensaio DPPH'	28
4.4 Composição química das rações	29
4.4.1 Homogeneização das amostras	29
4.4.2 Determinação de umidade.....	30
4.4.3 Determinação de cinzas ou resíduo mineral fixo.....	30

4.4.4	Determinação de lipídeos ou extrato etéreo (Método de Soxhlet)	30
4.4.5	Determinação de proteína	31
4.4.6	Determinação de fibra alimentar total.....	32
4.4.7	Determinação dos carboidratos disponíveis por diferença	33
4.5	Determinação do perfil de ácidos graxos da ração e do tecido hepático	33
4.5.1	Extração da fração lipídica.....	33
4.5.2	Preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos.....	34
4.5.3	Condições cromatográficas	34
4.6	Ensaio biológico.....	35
4.6.1	Preparo da Dieta.....	36
4.6.2	Eutanásia dos animais.....	36
4.6.3	Preparo dos homogenatos dos tecidos	37
4.7	Avaliação da atividade antioxidante <i>in vivo</i>	38
4.7.1	Determinação das enzimas antioxidantes na fração citosólica dos tecidos	38
4.7.2	Atividade da Superóxido Dismutase (SOD).....	38
4.7.3	Atividade da Catalase (CAT)	39
4.7.4	Atividade da Glutathione peroxidase (GPx).....	39
4.7.5	Quantificação de proteínas nos tecidos e soro.....	39
4.7.6	Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ...	40
4.7.7	Lipidograma	40
4.7.8	Enzimas marcadoras de lesão hepática.....	41
4.8	Monitoramento do experimento.....	41
4.9	Análise estatística	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1	Quantificação e perfil de compostos fenólicos	42
5.2	Avaliação da capacidade antioxidante	43
5.3	Quantificação dos compostos fenólicos presentes no extrato aquoso obtido em temperatura ambiente (AQ) e na fração fenólica livre (AFL) do alecrim.....	46
5.4	Análise das rações.....	48
5.5	Estudo <i>in vivo</i>	50

5.5.1	Efeito da administração do extrato aquoso obtido em temperatura ambiente (AQ) e da fração fenólica livre (AFL) do alecrim por 30 dias em ratos hipercolesterolêmicos.....	50
5.5.2	Efeito do extrato aquoso (AQ) e da fração fenólica livre (AFL) do alecrim sobre o lipidograma	51
5.5.3	Efeito do extrato aquoso (AQ) e da fração fenólica livre (AFL) do alecrim sobre as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no soro	53
5.5.4	Efeito do extrato aquoso (AQ) e da fração fenólica livre (AFL) do alecrim sobre as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) tecidual.....	55
5.5.5	Efeito do extrato aquoso (AQ) e da fração fenólica livre (AFL) do alecrim sobre as enzimas antioxidantes nos tecidos cardíaco, cerebral, hepático e renal.....	57
5.5.6	Avaliação do perfil de ácidos graxos no tecido hepático	62
5.5.7	Efeito do extrato aquoso (AQ) e da fração fenólica livre (AFL) do alecrim sobre as enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST)	65
6	CONCLUSÕES	67
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

