

**ELGA HELOISA ALBERTON**

**INFLUÊNCIA DE CHALCONAS ANÁLOGAS,  
XANTONAS E MONOSSACARÍDEOS NA GLICEMIA  
EM MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL**

FLORIANÓPOLIS

2007

Elga Heloisa Alberton

INFLUÊNCIA DE CHALCONAS ANÁLOGAS,  
XANTONAS E MONOSSACARÍDEOS NA GLICEMIA EM  
MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL

Dissertação apresentada ao curso de  
Pós-graduação em Farmácia da Universidade Federal de  
Santa Catarina, como requisito parcial para o  
título de Mestre em Farmácia.

Área de concentração: Análises Clínicas

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fátima Regina Mena Barreto Silva

Florianópolis

2007

ALBERTON, Elga Heloisa

Influência de chalconas análogas, xantonas e monossacarídeos na glicemia em modelo experimental animal/Elga Heloisa Alberton. Florianópolis, 2006. //p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de pós Graduação em Farmácia

1. Diabetes. 2. Ácido glicônico. 3. Ácido tartárico. 4. *Polygala paniculata*. 5. *Polygala cyparissias*. 6. Xantonas. 7. Chalconas.

**“INFLUÊNCIA DE CHALCONAS ANÁLOGAS, XANTONAS E  
MONOSSACARÍDEOS NA GLICEMIA EM MODELO  
EXPERIMENTAL ANIMAL”**

**POR**

**ELGA HELOISA ALBERTON**

**Dissertação julgada e aprovada em sua  
forma final pelo Orientador e  
membros da Banca Examinadora,  
composta pelos Professores Doutores:**

**Banca Examinadora:**

---

**Adair Roberto Soares dos Santos (UFSC)**

---

**Danilo Wilhelm Filho (UFSC)**

---

**Maria Rosa Chitolina Schetinger (UFSM-RS)**

**Florianópolis, 12 de fevereiro de 2007.**

Dedico este trabalho aos meus pais,  
Hercílio C. Alberton e Alba R. Lopes Minatto, pela  
oportunidade recebida e, que por vezes tão longe  
fisicamente, estiveram sempre, através de seu carinho e  
apoio, presentes em todos os momentos da minha vida.

# AGRADECIMENTOS

A DEUS por me conceder a oportunidade de realizar mais um sonho.

Agradecimento especial à minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fátima Regina Mena Barreto Silva, pela confiança em mim depositada. E que com dedicação, paciência e conhecimento ajudou-me a alcançar mais um objetivo

Aos meus queridos amigos, Maurício Nicolai Pereira e Fabiana Vieira Lima pela amizade sincera, paciência, e companheirismo.

Às colegas de laboratório que sempre estiveram presentes no decorrer deste período, e acima de tudo pela amizade, convivência e conhecimento compartilhado, Poliane Folador, Danusa Menegaz, Carine Royer, e Ângela Rosso, especialmente a Rosângela Damásio, Luisa Cazarolli e Leila Zanatta pelo apoio na realização dos experimentos.

A minha família, em especial aos meus tios, Olimpio e Alcina Alberton Yara C. Alberton, minha madrastra Zeneide P. Alberton, as primas Elisa e Clarissa Haas, meus irmãos Estevão e Ethel Alberton e minha avó, Teresa C. Alberton, pelo incentivo e apoio, sem o qual não seria possível a realização deste sonho.

À Marco Aurélio Silva, pelo carinho, atenção e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Moacir G. Pizzolatti pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

À doutoranda Louise Chiaradia por seu empenho e disponibilidade sempre que necessário.

À professora Dr<sup>a</sup>. Rozangela C. Pedrosa e Prof. Dr. Danilo Wilhelm Filho por compartilhar equipamentos.

O homem pretende ser imortal e, para isso, defende princípios efêmeros.

Um dia, inexoravelmente, descobrirá que, para ser  
imortal deverá defender Princípios Absolutos.

Nesse dia, morrerá para a carne, efêmera, e viverá para o  
Espírito, Eterno. Será Imortal.

*Celso Charuri*

## RESUMO

### INFLUÊNCIA DE CHALCONAS ANÁLOGAS, XANTONAS E MONOSSACARÍDEOS NA GLICEMIA EM MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de chalconas análogas (derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, 2-naftaldeído ou xantoxilina), monossacarídeos (ácido glicônico e tartárico), extrato bruto etanólico da *Polygala paniculata*, fração acetato de etila (AcEt) da *Polygala cyparissias* (que contém xantonas), na glicemia de ratos normoglicêmicos, hiperglicêmicos e diabéticos induzidos com aloxano. Para a comparação da curva de tolerância à glicose dos compostos testados, foi realizada a curva de substâncias com efeito hipoglicemiante conhecido (insulina e tolbutamida). As glicemias foram determinadas pelo método da glicose-oxidase. As chalconas análogas foram administradas na dosagem de 5, 10 e 15 mg/kg em ratos hiperglicêmicos. As coletas de sangue foram realizadas nos tempos zero, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos (curva de tolerância à glicose). Três séries de chalconas foram testadas, sendo que as chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 03, 04, 05, 07, 09 e 10) e naftaldeído (compostos 12, 13 e 14), apresentaram atividade hipoglicemiante, enquanto que as chalconas derivadas da xantoxilina não demonstraram qualquer efeito na glicemia, sugerindo assim, que substituintes na posição 3'e/ou 4' são essenciais para a atividade hipoglicêmica destes compostos. Os substituintes no anel A e B do núcleo das chalconas determina a potência e a eficiência na atividade hipoglicemiante destes novos compostos, quando comparados à insulina e à tolbutamida. O ácido glicônico foi administrado via oral nas dosagens de 25, 50, 100, 200, 400 e 800 mg/kg de peso corporal em ratos normoglicêmicos; hiperglicêmicos e diabéticos, via oral ou intraperitoneal. O ácido tartárico foi administrado nas dosagens de 100 mg/kg e 400 mg/kg via oral, em ratos normoglicêmicos e ratos hiperglicêmicos. As coletas de sangue de animais normoglicêmicos e diabéticos foram realizadas nos tempos zero, 1, 2 e 3 horas para o estudo da curva de dose-resposta em função do tempo e nos tempos de zero, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos para o estudo da curva de tolerância à glicose nos ratos hiperglicêmicos. Não houve mudança significativa nas glicemias de ratos normoglicêmicos tratados com ácido glicônico e ácido tartárico quando comparados com o tempo zero. Na curva de tolerância à glicose ocorreu aumento significativo na glicemia de animais tratados com ácido glicônico (400 mg/kg) nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos, e animais tratados com ácido tartárico (400 mg/kg) nos tempos 120 e 180 minutos. O ácido glicônico não alterou a glicemia de ratos diabéticos induzidos com aloxano. Estes resultados sugerem que o ácido glicônico e o tartárico não atuam como secretagogo de insulina e não possuem ação insulino-mimética. O EBETOH da *P. paniculata* foi administrado nas dosagens de 400, 800 e 1200 mg/kg em ratos diabéticos e hiperglicêmicos. A fração AcEt da *P. cyparissias* foi administrada na dosagem de 800 mg/kg em ratos diabéticos e hiperglicêmicos. A *P. paniculata* (EBETOH) não alterou significativamente a glicemia de ratos diabéticos induzidos com aloxano e também a curva de tolerância à glicose nas dosagens testadas. A *P. cyparissias* (AcEt) não reduziu a glicemia de ratos diabéticos, mas promoveu diminuição significativa da glicemia nos tempos de 15 e 30 minutos, quando comparados ao controle hiperglicêmico. Assim, a fração rica em xantonas da *P. cyparissias* demonstrou potencial atividade hipoglicemiante, enquanto que a *P. paniculata* (EBETOH) não demonstrou nenhuma ação anti-hiperglicêmica, anti-diabética ou insulino-mimética nestes testes realizados.

**Palavras-chave:** diabetes, ácido glicônico, ácido tartárico, *Polygala paniculata*, *Polygala cyparissias*, xantonas e chalconas.



## ABSTRACT

### INFLUENCE OF CHALCONE ANALOGUES, XANTHONES AND MONOSACCHARIDES ON GLYCEMIA IN AN EXPERIMENTAL ANIMAL MODEL

The objective of this investigation was to study the effect of chalcone analogues (derived from 3,4-methylenedioxy-benzaldehyde, 2-naphthaldehyde or xanthoxylin), monosaccharides (gluconic and tartaric acids), the crude ethanolic extract of *Polygala paniculata*, and the ethyl acetate fraction (EtAc) of *Polygala cyparissias* (that contains xanthenes) on glycemia in normoglycemic rats, hyperglycaemic rats, and in alloxan-induced diabetic rats. The glucose tolerance curve of the compounds being tested was compared with a curve obtained using substances with a known hypoglycaemic effect (insulin and tolbutamida). Glycemia was determined by the glucose-oxidase method. The chalcone analogues were administered at doses of 5, 10 and 15 mg/kg in hyperglycaemic rats. Blood was collected at time zero and at 15, 30, 60, 120 and 180 minutes (glucose tolerance curve). Three series of chalcones were tested, those derived from 3,4-methylenedioxy-benzaldehyde (compounds 03, 04, 05, 07, 09 and 10) and naphthaldehyde (compounds 12, 13 and 14) that presented hypoglycaemic activity, and chalcones derived from xanthoxylin, which did not present any effect on glycemia, suggesting that substituents in the 3' and/or 4' positions are essential for the hypoglycaemic activity of these compounds. Substituents in the A and B ring of the nucleus of the chalcones determine the potency and efficiency in hypoglycaemic activity of these new compounds compared to insulin and tolbutamide. Gluconic acid was administered by oral route at doses of 25, 50, 100, 200, 400 and 800 mg/kg body weight in normoglycemic rats, and via oral or intraperitoneal route in hyperglycaemic and diabetic rats. Tartaric acid was administered at doses of 100 mg/kg and 400 mg/kg via oral route in normoglycemic and hyperglycaemic rats. Blood was collected from normal and diabetic animals at time zero, and then at 1, 2 and 3 hours to construct a dose-response curve as a function of time, and at time zero, then at 15, 30, 60, 120 and 180 minutes to produce a glucose tolerance curve in hyperglycaemic rats. There was no significant change in the glycemia of normoglycemic rats treated with gluconic acid and tartaric acid compared to time zero. In the glucose tolerance curve for animals treated with gluconic acid (400 mg/kg) there was a significant increase in glycemia at 15, 30, 60 and 120 minutes, while in animals treated with tartaric acid (400 mg/kg) this was present at 120 and 180 minutes. Gluconic acid did not change the glycemia in alloxan-induced diabetic rats. These results suggest that gluconic and tartaric acids do not act as insulin secretagogues and do not possess an insulinomimetic action. The EBEtOH of *P. paniculata* was administered at doses of 400, 800 and 1200 mg/kg in diabetic and hyperglycaemic rats. The EtAc fraction of *P. cyparissias* was administered at a dose of 800 mg/kg in diabetic and hyperglycaemic rats. *P. paniculata* (EBEtOH) did not significantly alter glycemia in alloxan-induced diabetic rats nor did it affect the glucose tolerance curve at the doses tested. *P. cyparissias* (EtAc) did not reduce glycemia in diabetic rats, although it did cause a significant decrease in glycemia at 15 and 30 minutes when compared to the hyperglycaemic control. In summary, the xanthenes-rich fraction of *P. cyparissias* exhibited potential hypoglycaemic activity, while *P. paniculata* (EBEtOH) did not present any anti-hyperglycaemic, anti-diabetic or insulinomimetic action in the tests.

**Key words:** diabetes, gluconic acid, tartaric acid, *Polygala paniculata*, *Polygala cyparissias*, xanthenes and chalcones.

# SUMÁRIO

<b><u>RESUMO.....</u></b>	<b>07</b>
<b><u>ABSTRACT.....</u></b>	<b>08</b>
<b><u>LISTA DE FIGURAS.....</u></b>	<b>14</b>
<b><u>LISTA DE TABELAS.....</u></b>	<b>18</b>
<b><u>1 INTRODUÇÃO.....</u></b>	<b><u>19</u></b>
1.1 Diabetes Melito.....	19
1.2 Insulina.....	20
1.3 Terapia com Insulina.....	23
1.4 Hipoglicemiantes Orais.....	24
1.4.1 Sulfoniluréias e Guinidas.....	24
1.4.2 Inibidores da $\alpha$ -glicosidase.....	24
1.4.3 Biguanidas.....	25
1.4.4 Tiazolidinadionas.....	25
1.4.5 Outros secretagogos de insulina.....	25
1.5 Plantas Medicinais.....	26
1.5.1 Flavonóides.....	26
1.5.2 Chalconas.....	29
1.5.3 Xantonas.....	30
<b><u>2 JUSTIFICATIVA.....</u></b>	<b><u>35</u></b>
<b><u>3 OBJETIVOS.....</u></b>	<b><u>37</u></b>
<b><u>4 METODOLOGIA.....</u></b>	<b><u>38</u></b>
4.1. Reagentes.....	38

<b>4.2 Soluções.....</b>	<b>38</b>
<b>4.3 Preparação das chalconas análogas.....</b>	<b>38</b>
4.3.1 Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído.....	38
4.3.2 Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2-naftaldeído...	39
4.3.3 Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2,4,6-trimetóxi-acetofenona.....	40
<b>4.4 Coleta, identificação e preparação dos extratos da <i>Polygala paniculata</i> e <i>Polygala cyparissias</i>.....</b>	<b>41</b>
4.4.1 Coleta.....	41
4.4.2 Preparação do extrato bruto etanólico (EBEtOH) da <i>Polygala paniculata</i> .....	41
4.4.3 Preparação da fração acetato de etila (AcEt) da <i>Polygala cyparissias</i> .....	42
<b>4.5 Animais e tratamentos.....</b>	<b>44</b>
4.5.1 Animais diabéticos induzidos com aloxano.....	44
4.5.2 Administração de monossacarídeos (ácido glicônico e ácido tartárico) em animais normoglicêmicos.....	45
4.5.3 Administração de chalconas, monossacarídeos (ácido glicônico e ácido tartárico), extrato da <i>Polygala paniculata</i> , fração da <i>Polygala Cyparissias</i> ou tolbutamida por via oral e tratamento com insulina via intraperitoneal em animais hiperglicêmicos.....	45
4.5.4 Administração via oral e intraperitoneal do ácido glicônico e via oral do extrato bruto etanólico da <i>Polygala paniculata</i> , e da fração acetato de etila da <i>Polygala cyparissias</i> , em animais diabéticos induzidos com aloxano.....	46
<b>4.6 Coleta de sangue e determinação da glicemia.....</b>	<b>46</b>
<b>4.7 Análise estatística.....</b>	<b>47</b>
<b><u>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</u></b>	<b><u>48</u></b>
<b>5.1 Caracterização do Diabetes Experimental com Aloxano.....</b>	<b>48</b>
<b>5.2 Efeito da tolbutamida na curva de tolerância à glicose.....</b>	<b>48</b>

<b>5.3 Efeito da insulina lispro e insulina regular na curva de tolerância à glicose.....</b>	<b>50</b>
<b>5.4 Estudo da atividade biológica de chalconas na glicemia em modelo experimental animal (parte I).....</b>	<b>51</b>
5.4.1 Núcleo fundamental das chalconas.....	52
5.4.1.1 Efeito agudo da administração oral de chalcona (núcleo fundamental) na curva de tolerância à glicose.....	53
5.4.2 Chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído.....	56
5.4.2.1 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)1-FENIL-2-PROPEN-1-ONA (composto 01) na curva de tolerância à glicose.....	57
5.4.2.2 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)1-(2'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 02) na curva de tolerância à glicose.....	58
5.4.2.3 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-METÓXI-4 -HIDROXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 03) na curva de tolerância à glicose.....	59
5.4.2.4 Curva de dose-resposta do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-METÓXI-4 -HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 03) na glicemia.....	60
5.4.2.5 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL) 1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 04) na curva de tolerância à glicose.....	61
5.4.2.6 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 05) na curva de tolerância à glicose.....	62
5.4.2.7 Curva de dose-resposta do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 05) na glicemia.....	63
5.4.2.8 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 06) na curva de tolerância à glicose.....	66
5.4.2.9 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-BROMO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 07) na curva de tolerância à glicose.....	66
5.4.2.10 Efeito agudo da administração oral do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5 IL)-1-(2',5'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 08) na curva de tolerância à glicose.....	67

5.4.2.11 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 09) na curva de tolerância à glicose.....	68
5.4.2.12 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 10) na curva de tolerância à glicose.....	69
5.4.3 Chalconas derivadas do 2-naftaldeído.....	72
5.4.3.1 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 11) na curva de tolerância à glicose.	73
5.4.3.2 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 12) na curva de tolerância à glicose.....	74
5.4.3.3 Curva de dose-resposta do composto (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 12) na glicemia.....	75
5.4.3.4 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 13) na curva de tolerância à glicose.....	76
5.4.3.5 Curva de dose-resposta do composto (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 13) na glicemia.....	77
5.4.3.6 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-METÓXI-4'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 14) na curva de tolerância à glicose.....	78
5.4.3.7 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 15) na curva de tolerância à glicose.....	79
5.4.4 Chalconas derivadas da xantoxilina (2-hidróxi-4,6-dimetóxi-acetofenona).....	81
5.4.4.1 Efeito agudo da administração oral do (2E)-1-(2-HIDRÓXI-4,6-DIMETÓXIFENIL)-3-{3-CLOROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 16) na curva de tolerância à glicose.....	82
5.4.4.2 Efeito agudo da administração oral do (2E)-1-(2-HIDROXI-4,6-DIMETOXIFENIL)-3-{3-NITROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 17) na curva de tolerância à glicose.....	83
5.4.5 Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído e 2-naftaldeído; insulinas lispro e regular e tolbutamida na glicemia de ratos hiperglicêmicos em diferentes tempos.....	85
5.4.5.1 Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído e 2-naftaldeído, insulina lispro e regular e tolbutamida na glicemia de ratos hiperglicêmicos.....	86

<b>5.5 Estudo da atividade biológica de monossacarídeos e xantonas na glicemia em modelo experimental animal (parte II).....</b>	<b>92</b>
5.5.1 Monossacarídeos.....	93
5.5.1.1 Efeito agudo do ácido glicônico via oral na glicemia de ratos normoglicêmicos..	94
5.5.1.2 Efeito agudo do ácido glicônico na curva de tolerância à glicose.....	95
5.5.1.3 Efeito agudo do ácido glicônico via oral e intraperitoneal na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano.....	96
5.5.1.4 Efeito do ácido tartárico na glicemia de animais normoglicêmicos.....	97
5.5.1.5 Efeito do ácido tartárico na curva de tolerância à glicose.....	98
5.5.2 Estudo de extratos e frações com xantonas na glicemia de ratos.....	99
5.5.2.1 Efeito da <i>Polygala paniculata</i> (EBEtOH) e da <i>Polygala cyparissias</i> (AcEt) administrada pela via oral na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano.....	100
5.5.2.2 Efeito da <i>Polygala paniculata</i> (EBEtOH) e da <i>Polygala cyparissias</i> (AcEt) na curva de tolerância à glicose.....	102
<b><u>6 CONCLUSÕES.....</u></b>	<b><u>104</u></b>
<b><u>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</u></b>	<b><u>106</u></b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01.</b> Mecanismo de secreção de insulina.....	21
<b>Figura 02.</b> Núcleo fundamental dos flavonóides.....	27
<b>Figura 03.</b> Esquema da rota biossintética dos flavonóides.....	28
<b>Figura 04.</b> Núcleo fundamental das chalconas.....	29
<b>Figura 05.</b> Espécie vegetal <i>Polygala paniculata</i> .....	31
<b>Figura 06.</b> 1,5-diidróxi-2,3-dimetóxi-xantona.....	32
<b>Figura 07.</b> 1-hidróxi-5-metóxi-2,3-metilenodioxixantona.....	32
<b>Figura 08.</b> Derivados da metoxixantona.....	33
<b>Figura 09.</b> 1,7-diidróxi-2,3-metilenodioxixantona.....	33
<b>Figura 10.</b> Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído.....	39
<b>Figura 11.</b> Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2-naftaldeído.....	40
<b>Figura 12.</b> Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2,4,6-trimetóxi-acetofenona.....	40
<b>Figura 13.</b> Representação esquemática da preparação do extrato bruto etanólico (EBEtOH) da <i>Polygala paniculata</i> .....	42
<b>Figura 14.</b> Representação esquemática da preparação da fração etanólica (AcEt) da <i>P. cyparissias</i> .....	43
<b>Figura 15.</b> Indução do diabetes através da injeção intravenosa de aloxano na veia dorsal peniana.....	45
<b>Figura 16. A)</b> Estrutura química da tolbutamida. <b>B)</b> Efeito agudo da administração da tolbutamida via oral na curva de tolerância à glicose.....	49
<b>Figura 17.</b> Efeito agudo da administração de insulina lispro e insulina regular via intraperitoneal na curva de tolerância à glicose.....	50
<b>Figura 18. A).</b> Núcleo fundamental das chalconas. <b>B)</b> Efeito agudo de chalcona	

(núcleo fundamental) na curva de tolerância à glicose.....	53
<b>Figura 19. A)</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-FENIL-2-PROPEN-1-ONA (composto 01). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 01 na curva de tolerância à glicose.....	57
<b>Figura 20. A)</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(2'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 02). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 02 na curva de tolerância à glicose.....	58
<b>Figura 21. A).</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-METÓXI-4-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 03). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 03 na curva de tolerância à glicose.....	59
<b>Figura 22.</b> Curva de dose-resposta do composto 03 na glicemia após 1 hora de tratamento.....	60
<b>Figura 23. A).</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 04). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 04 na curva de tolerância à glicose.....	61
<b>Figura 24. A)</b> Estrutura química do (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 05). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 05 na curva de tolerância à glicose.....	62
<b>Figura 25. A)</b> Curva de dose-resposta do composto 05 na glicemia após 30 minutos de tratamento. <b>B)</b> Curva de dose-resposta do composto 05 na glicemia após 1 hora de tratamento.....	63
<b>Figura 26. A)</b> Estrutura química do (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 06). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 06 na curva de tolerância à glicose.....	65
<b>Figura 27. A)</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-BROMO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 07). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 07 na curva de tolerância à glicose.....	66
<b>Figura 28. A)</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(2',5'-DIMETOXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 08). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 08 na curva de tolerância à glicose.....	67
<b>Figura 29. A)</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 09). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 09 na curva de tolerância à glicose.....	68
<b>Figura 30. A)</b> Estrutura química do composto (2 <i>E</i> )-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 10). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 10 na curva de tolerância à glicose.....	69
<b>Figura 31. A)</b> Estrutura química (2 <i>E</i> )-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-	



2-PROPEN-1-ONA (composto 11). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 11 na curva de tolerância à glicose.....	73
<b>Figura 32. A)</b> Estrutura química (2 <i>E</i> )-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 12). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 12 na curva de tolerância à glicose.....	74
<b>Figura 33.</b> Curva de dose-resposta do composto 12 na glicemia após 30 minutos de tratamento.....	75
<b>Figura 34. A)</b> Estrutura química (2 <i>E</i> )-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 13). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 13 na curva de tolerância à glicose.....	76
<b>Figura 35.</b> Curva de dose-resposta do composto 13 na glicemia após 15 minutos de tratamento.....	77
<b>Figura 36. A)</b> Estrutura química (2 <i>E</i> )-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-METÓXI-4'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 14). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 14 na curva de tolerância à glicose.....	78
<b>Figura 37. A)</b> Estrutura química do (2 <i>E</i> )-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 15). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 15 na curva de tolerância à glicose.....	79
<b>Figura 38. A)</b> Estrutura química (2 <i>E</i> )-1-(2-HIDRÓXI-4,6-DIMETÓXIFENIL)-3-{3-CLOROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 16). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 16 na curva de tolerância à glicose.....	82
<b>Figura 39. A)</b> Estrutura química (2 <i>E</i> )-1-(2-HIDRÓXI-4,6-DIMETÓXIFENIL)-3-{3-NITROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 17). <b>B)</b> Efeito agudo do composto 17 na curva de tolerância à glicose.....	83
<b>Figura 40. A)</b> Chalconas com potencial atividade hipoglicemiante. <b>B)</b> Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 09 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13), insulina lispro e regular na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 15 minutos de tratamento. <b>C)</b> Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 04,05, 07 09 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13 e 14), insulina lispro e regular na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 30 minutos de tratamento. <b>D)</b> Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (composto 01, 03, 05 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13 e 14), insulina lispro e regular e tolbutamida na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 1h de tratamento via oral.....	88
<b>Figura 41. A)</b> Estrutura química da glicose. <b>B)</b> Estrutura química do ácido glicônico. <b>C)</b> Efeito agudo do ácido glicônico na glicemia de ratos normoglicêmicos nas dosagens de 25, 50 e 100 mg/kg de peso corporal. <b>D)</b> Efeito agudo do ácido glicônico na glicemia de ratos normoglicêmicos nas dosagens de 200, 400 e 800 mg/kg de peso corporal.....	94

<b>Figura 42.</b> Efeito agudo do ácido glicônico na curva de tolerância à glicose.....	<b>95</b>
<b>Figura 43.</b> Efeito agudo da administração do ácido glicônico via oral e intraperitoneal na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano.....	<b>96</b>
<b>Figura 44. A)</b> Estrutura química do ácido tartárico. <b>B)</b> Efeito agudo da administração do ácido tartárico administrado pela via oral na glicemia de animais normoglicêmicos.....	<b>97</b>
<b>Figura 45.</b> Efeito agudo do ácido tartárico na curva de tolerância à glicose.....	<b>98</b>
<b>Figura 46. A)</b> Efeito da <i>Polygala paniculata</i> (EBEtOH) via oral na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano. <b>B)</b> Efeito da <i>Polygala cyparissias</i> (AcEt) via oral na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano.....	<b>100</b>
<b>Figura 47. A)</b> Efeito agudo da <i>P. paniculata</i> (EBEtOH) na curva de tolerância à glicose. <b>B)</b> Efeito agudo da <i>P. cyparissias</i> (AcEt) na curva de tolerância à glicose.....	<b>102</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resumo dos efeitos da insulina sobre o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas no fígado, músculo e tecido adiposo.....	22
<b>Tabela 2.</b> Efeito do aloxano no peso corporal e glicemia após três dias de indução do diabetes.....	48

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Diabetes Melito

Diabetes Melito (DM) é um dos mais importantes problemas de saúde mundial. Dados epidemiológicos demonstram que a prevalência mundial estimada para o ano de 2030 é de 4,4% da população. O número total de pessoas com diabetes aumentará, do ano de 2000 à 2030, de 171 milhões para 366 milhões. No continente americano, estima-se que, no mesmo período, a prevalência de diabetes duplicará, concentrando nesta região em torno de 66 milhões de pessoas, sendo que no Brasil haverá 11 milhões de indivíduos diabéticos (WILD et al., 2004; WHO, 2006).

Define-se o DM como um grupo de desordens metabólicas caracterizada pela hiperglicemia resultante dos defeitos da secreção e/ou ação da insulina, levando a um distúrbio no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos (ISLAS-ANDRADE et al., 2000; PERFETTI, 2000; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2006).

Clinicamente, existem duas classificações gerais para o diabetes: Tipo 1, ou insulino-dependente (DMID) e o Tipo 2 ou não insulino-dependente (DMNID). O diabetes Tipo 1 é resultante da destruição auto-imune das células  $\beta$  pancreáticas e ocorre em apenas 5-10% dos pacientes. Nestes indivíduos, a amplitude de destruição das células  $\beta$  é muito variável, podendo ser rápida (principalmente em crianças) ou mais lenta (preferencialmente em adultos), sendo o uso de insulina exógena o tratamento indicado neste tipo de diabetes (CONCANNON et al., 2005). Já o Tipo 2 ocorre em 90-95% dos pacientes com diabetes, sendo que a maioria desses indivíduos são obesos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2006). A resistência à insulina, ou seja, a redução da habilidade da insulina de realizar suas funções é a característica chave do Tipo 2, sendo a obesidade a principal situação clínica associada. Outras condições incluem síndrome de *cushing*, cirrose e acromegalia (PROIETTO, 2005).

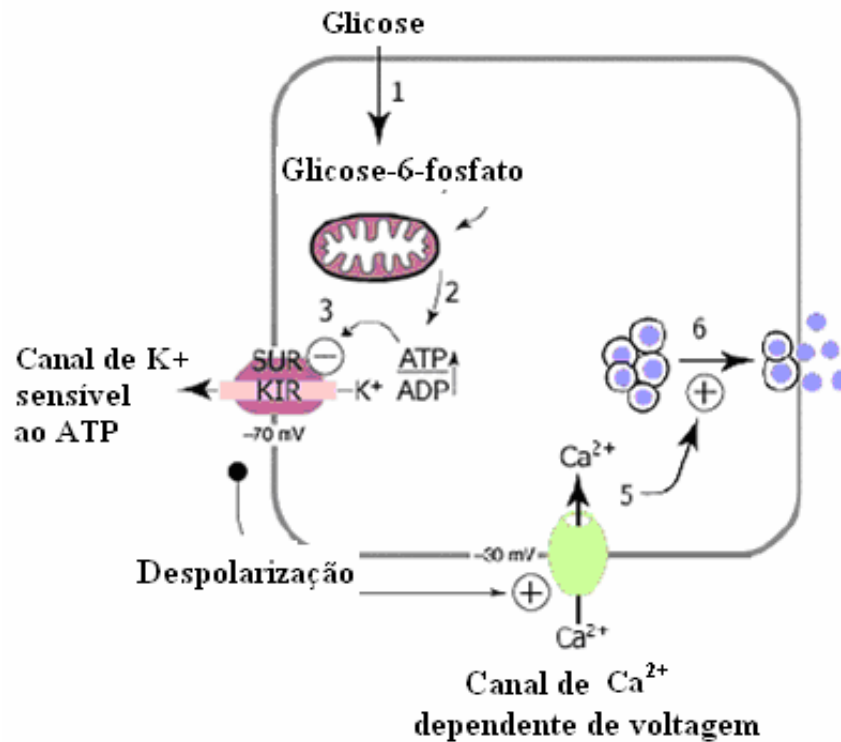
O DM, como já mencionado, apresenta como característica uma marcante hiperglicemia. Os sintomas da hiperglicemia incluem poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e perturbações visuais. AS complicações a longo prazo incluem retinopatia com potencial perda da visão, neuropatia com conseqüente falência renal, neuropatia periférica

com risco de amputações e neuropatia autonômica causando sintomas cardiovasculares, gastrointestinais, genituitários e disfunção erétil (BALL; BARBER, 2003).

## 1.2 Insulina

A insulina é um hormônio peptídico sintetizado pelas células  $\beta$  pancreáticas das ilhotas de Langerhans a partir de um precursor de 110 aminoácidos, a pré-pró-insulina, que posteriormente, é clivada no retículo endoplasmático dando origem à pró-insulina. Esta é transportada ao complexo de Golgi onde é convertida à insulina. O produto final é composto por duas cadeias peptídicas (A e B) unidas por duas pontes dissulfeto. A cadeia A ( $\alpha$ ) é formada por 21 resíduos de aminoácidos e a cadeia B ( $\beta$ ) possui 30 resíduos (LÊ FLEM et al., 2002).

A secreção de insulina pelas células  $\beta$  inicia-se, basicamente, em função da hiperglicemia. No pâncreas, a glicose é transportada para dentro da célula através de transportadores de glicose tipo 2 (GLUT 2). Dentro da célula existem canais compostos de quatro subunidades  $K^+_{IR} 6.2$  (canal de potássio com retificação interna), formando o poro do canal, e quatro subunidades SUR 1 (receptor de sulfoniluréia 1) que é requerida para ativação e regulação. A ligação intracelular de ATP ao  $K^+_{IR} 6.2$  fecha o canal, enquanto a abertura dá-se pela ligação de MgADP ao SUR1. O primeiro passo para o metabolismo da glicose é a fosforilação pela enzima glicocinase, formando glicose-6-fosfato, conseqüentemente produzindo ATP. O aumento da razão ATP/MgADP resultante do metabolismo da glicose fecha o canal, levando a um aumento de carga positiva dentro da célula  $\beta$ , e a conseqüente despolarização da membrana, abrindo canais de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) dependentes de voltagem. O aumento de cálcio intracelular desencadeia a secreção do hormônio (GRIBBLE; REIMANN, 2003; DEAN, 2004; HENQUIN, 2004). A figura 01 mostra o mecanismo de secreção de insulina.



**Figura 01.** Mecanismo de secreção de insulina. Adaptado de DEAN, 2004.

A insulina, uma vez secretada, promove a captação, armazenamento e rápida utilização da glicose pelos tecidos corporais, principalmente o fígado, músculo e tecido adiposo. Em relação ao metabolismo dos carboidratos, altos níveis de insulina estimulam a glicólise para liberação de energia; a glicose que não é imediatamente utilizada é captada pelo fígado e músculo, onde é convertido em glicogênio. No fígado, a insulina estimula a produção de glicogênio através da estimulação da glicogênio sintetase, inibição da glicogênio fosforilase e inibição da gliconeogênese. No músculo, a insulina aumenta a síntese de glicogênio, estimula a glicólise e a captação de glicose por aumentar o número de transportadores de glicose (GLUT-4) na membrana plasmática. No tecido adiposo, a insulina estimula a captação de glicose semelhante ao músculo e promove a lipogênese, aumentando a atividade da lipoproteína lipase, que libera ácidos graxos para a síntese de triglicerídeos e inibe a lipase hormônio-sensível, enzima responsável pela quebra dos estoques de gordura. Com relação ao metabolismo protéico, a insulina também possui um efeito anabólico, promovendo a entrada de aminoácidos nas células e estimulando a síntese protéica (TAHA; KLIP, 1999; BEARDSALL et al, 2003; MOORE et al., 2003). A tabela 01 representa as ações da insulina no fígado, músculo e tecido adiposo.

Tipo de metabolismo	Células hepáticas	Tecido adiposo	Músculo
Metabolismo de carboidratos	↓ gliconeogênese	↑ captação de glicose	↑ captação de glicose
	↓ glicogenólise	↑ síntese de glicerol	↑ glicólise
	↑ glicólise		↑ glicogênese
	↑ glicogênese		
Metabolismo de lipídios	↑ lipogênese	↑ síntese de triglicerídeos	-----
	↓ lipólise	↑ síntese de ácidos graxos	
Metabolismo de proteínas	↓ degradação das proteínas	-----	↑ captação de aminoácidos
			↑ síntese de proteínas

Onde ↑ significa aumento e ↓ significa diminuição.

**Tabela 1.** Resumo dos efeitos da insulina sobre o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas no fígado, músculo e tecido adiposo.

Durante o jejum, os níveis de insulina na circulação sanguínea diminuem, enquanto o glucagon e outros hormônios contra-regulatórios aumentam. O glucagon, hormônio produzido pelas células  $\alpha$  pancreáticas, é um antagonista dos efeitos da insulina, tendo como prioridade fundamental o aumento da glicemia estimulando a quebra de glicogênio e a gliconeogênese. O fígado é o órgão primário responsável pela gliconeogênese, mas após um jejum prolongado (ser humano, 18 h para depleção total do glicogênio hepático), o rim também pode contribuir para a produção de glicose. Embora os níveis de glicose plasmática sejam inicialmente mantidos pela glicogenólise hepática, o glicogênio estocado esgota-se e a contribuição da gliconeogênese a partir de glicerol, lactato e aminoácidos aumenta progressivamente (TAHA; KLIP, 1999; BEARDSALL et al., 2003; MOORE et al., 2003).

A insulina é o hormônio mais importante que regula o metabolismo energético. Uma deficiência relativa ou absoluta, como no caso do diabetes, leva a severas disfunções nos principais órgãos-alvos da insulina, isto é, fígado, tecido adiposo e músculo (HEI, 1998).

Quando ausente, entre outros efeitos, a falta de insulina leva ao aumento dos níveis glicêmicos, diminuição da captação de glicose pelos tecidos periféricos e redução da síntese protéica, devido à diminuição do transporte de aminoácidos para o músculo. Além disso, os aminoácidos são utilizados como substrato para a gliconeogênese. A ação lipogênica é perdida, elevando os níveis plasmáticos de ácidos graxos (MOORE et al., 2003; RODEN; BERNROIDER, 2003).

### **1.3 Terapia com Insulina**

O tratamento intensivo com insulina pode reduzir a morbidade e a mortalidade associada com as complicações do diabetes melito tipo 1 e tipo 2. Este tipo de tratamento é mais comumente utilizado em pacientes com diabetes do tipo 1, mas também em pacientes com diabetes melito tipo 2 que não conseguiram atingir um bom controle glicêmico com dieta, exercícios e hipoglicemiantes orais. A terapia intensiva com insulina mimetiza o padrão normal de secreção de insulina incluindo injeções subcutâneas de insulina de ação ultra-rápida ou de ação curta antes das refeições, e uma ou múltiplas administrações de insulina de ação intermediária, de longa duração, ou utilização do sistema de infusão contínua para manter a normoglicemia entre as refeições e prevenir a hiperglicemia noturna. Entretanto, na utilização exógena não ocorre a liberação da insulina na circulação porta e sim na periférica, o que elimina o efeito preferencial da insulina nos processos metabólicos hepáticos (GERICH, 2002; LINDHOLM, 2002).

Quanto à origem, as preparações insulínicas são classificadas como bovina, suína ou humana. As diferenças entre elas são mínimas atendo-se a alterações em 1 (suína) ou 3 (bovina) aminoácidos da cadeia em relação à insulina humana. A insulina humana é amplamente utilizada em função do desenvolvimento de técnicas de DNA recombinante. Quanto ao tipo de insulina, elas são classificadas de acordo com o início de ação e o pico máximo de atividade. Assim, as insulinas de ação ultra-rápida, dentre elas incluem-se a lispro e aspart, apresentam início de ação aproximadamente em 15 minutos, pico máximo de atividade entre 30 minutos e 2 horas, e duração de, no máximo, 4 horas. Já as insulinas de ação curta, como a regular, o início de ação ocorre entre 30 minutos e 1 hora, pico máximo de atividade entre 2 e 3 horas e duração total de efeito entre 6 e 8 horas. As insulinas de ação intermediária apresentam um período mais longo de ação (entre 16 e 24 horas), incluindo-se neste grupo a NPH (insulina com protamina de Hagedorn) e insulina lenta; o pico de ação



dessas insulinas é muito variável, podendo ocorrer entre 4 e 10 horas no caso da NPH, e entre 7 e 15 horas com relação à lenta. Há também insulinas de ação longa (20 à 30 horas), mas que no entanto, não apresentam pico de atividade, reduzindo assim, os riscos de hipoglicemia. Dentre elas estão a insulina glargina e a insulina detemir (OIKNINE; MOORADIAN, 2003).

## **1.4 Hipoglicemiantes Orais**

### **1.4.1 Sulfoniluréias e Guinidas**

O receptor de sulfoniluréia 1 (SUR-1), localizado na membrana plasmática das células  $\beta$  pancreáticas, possui dois sítios de ligação: sítio A e sítio B. A ligação de compostos nestes dois sítios produzem o mesmo efeito final, ou seja, fechamento de canais de potássio dependentes de ATP com subsequente despolarização da membrana plasmática e aumento do influxo de cálcio. O aumento do cálcio intracelular, por sua vez, sinaliza a secreção de insulina. As sulfoniluréias, como a tolbutamida e a glibenclamida, ligam-se ao sítio A do SUR-1. Já as glinidas, como a repaglinida, exercem a ação através de ligação ao sítio B do SUR-1 e a nateglinida ao sítio A (HENQUIN, 2004).

As primeiras sulfoniluréias a serem utilizadas clinicamente foram a tolbutamida e a clorpropamida, que apresentam início de ação demorado e efeito de longa duração, sendo o principal efeito colateral a hipoglicemia. Os fármacos mais recentes, como glibenclamida, glizipida e glicazida apresentam potência aumentada e menor tempo de ação, como também menores efeitos colaterais (PERFETTI, 2000).

### **1.4.2 Inibidores da $\alpha$ -glicosidase**

As  $\alpha$ -glicosidases são enzimas responsáveis pelo processamento de carboidratos complexos, glicoproteínas e glicolipídeos. Os inibidores de  $\alpha$ -glicosidase inibem a captação de carboidratos da dieta (amido, dextrinas e dissacarídeos) através da inibição competitiva das  $\alpha$ -glicosidases da orla ciliada intestinal, suprimindo, desta maneira, a hiperglicemia pós-prandial (ROSAK, 2002; SEO et al., 2005). Esta classe de medicamentos é utilizada em pacientes com diabetes tipo 2, que não são controlados pela dieta, com ou sem outros agentes. Entre os medicamentos desta classe terapêutica está a ascarbose, sendo os efeitos adversos mais comuns relacionados ao mecanismo de ação, consistindo em flatulência, fezes moles ou diarreia e dor ou distensões abdominais (RANG et al., 2000).

### 1.4.3 Biguanidas

As biguanidas são agentes hipoglicemiantes que não necessitam de células  $\beta$  pancreáticas funcionantes para alterar o metabolismo da glicose. A metformina é a principal representante desta classe de fármacos, sendo amplamente utilizada na clínica. Não estimula o apetite e, por conseguinte, mostra-se útil na maioria dos pacientes com diabetes tipo 2 que são obesos e não respondem eficientemente ao tratamento apenas com dieta. O mecanismo de ação consiste em diminuir a produção de glicose hepática, reduzindo a gliconeogênese e melhorar a resistência à insulina, aumentando a captação de glicose no fígado e músculo. Possui ações metabólicas adicionais como redução da concentração plasmática de lipoproteínas de baixa densidade e lipoproteínas de densidade muito baixa. O principal efeito indesejável consiste em distúrbios intestinais transitórios, náuseas e diarreias (CHAN et al., 2006).

### 1.4.4 Tiazolidinadionas

As tiazolidinadionas (TZDs) melhoram a sensibilidade à insulina em pacientes com diabetes tipo 2. Os efeitos desses agentes dá-se pelo aumento da disponibilidade da glicose nos tecidos periféricos e a supressão da produção de glicose pelo fígado. Estes agentes também diminuem o nível de triglicerídeos e ácidos graxos livres e aumentam a concentração de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Em pacientes diabéticos, a resistência à insulina, a secreção de insulina insuficiente e o aumento da produção de glicose hepática, são as três maiores desordens que levam à hiperglicemia (FUJIWARA; HORIKOSHI, 2000; PETERSEN, 2006). Os medicamentos desta classe utilizados clinicamente são a pioglitazona e rosiglitazona.

### 1.4.5 Outros secretagogos de insulina

Na literatura é descrito que os ésteres de hexoses podem afetar a liberação de insulina de ilhotas pancreáticas através de dois modos de ação. Os ésteres de monossacarídeos metabolizáveis como a  $\alpha$ -D-glicose pentaacetato, exercem uma ação insulinoatrófica através do catabolismo da molécula de carboidrato. Entretanto, os ésteres de açúcares que não são nutrientes, tal como os  $\beta$ -L-glicose pentaacetato, estimulam a secreção de insulina através do sistema de receptor (MERCAN et al., 1999). Dessa forma, os monossacarídeos análogos à glicose, podem representar uma boa ferramenta para estimular a liberação de insulina, ativar o

receptor desse hormônio ou prevenir a secreção hormonal excessiva em situações de hiperinsulinemia. Apoiados em demonstrações recentes de que o complexo D-Gluconato-oxovanádio exibiu um efeito hipoglicemiante agudo após a primeira hora de tratamento pela via intraperitoneal em ratos diabéticos induzidos com aloxano (GUIOTOKU, 2002), e em dados da literatura que demonstram, de forma ainda não elucidativa, a ação de monossacarídeos como potenciais agentes hipoglicemiantes, neste trabalho foram selecionados dois monossacarídeos, ácido glicônico e ácido tartárico, como objetivo de estudo.

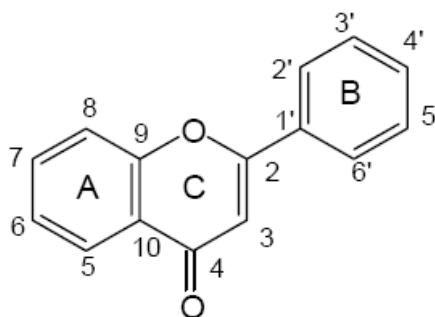
## **1.5 Plantas Medicinais**

As plantas medicinais foram durante muito tempo a base da terapêutica e, atualmente, cerca de 25% dos fármacos utilizados são de origem vegetal, enquanto 50% são sintéticos, cujos protótipos têm origem nos princípios isolados de plantas medicinais (UGAZ, 1994; CECHINEL FILHO, 1998). Devido à grande diversidade da flora e a dificuldade de recursos financeiros em alguns países, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem incentivado a utilização de plantas como recurso para o tratamento de doenças, como o diabetes. Acredita-se que esta alternativa, bem mais econômica, possa beneficiar 80% da população mundial que utiliza-se de plantas como primeiro recurso terapêutico (YAMADA, 1998).

Muitas espécies de plantas são conhecidas na medicina popular de diferentes culturas pelas propriedades hipoglicemiantes e pelo uso crescente no tratamento do diabetes (ABDEL-BARRY et al., 1997). Apoiado no conhecimento e uso popular, a pesquisa e a comprovação dos efeitos e dos constituintes dessas plantas tornam esta área cientificamente atrativa. Este crescimento deve-se ao fato de que as substâncias encontradas nestas plantas possam servir como agentes hipoglicemiantes que mimetizam o efeito da insulina. Dessa forma, estas substâncias poderiam substituir as dolorosas injeções de insulina, proporcionar alívio na vida dos diabéticos do tipo I, minimizar os efeitos colaterais dos agentes hipoglicemiantes orais no caso dos diabéticos do tipo II, e também diminuir os elevados custos do tratamento para pessoas de baixa renda.

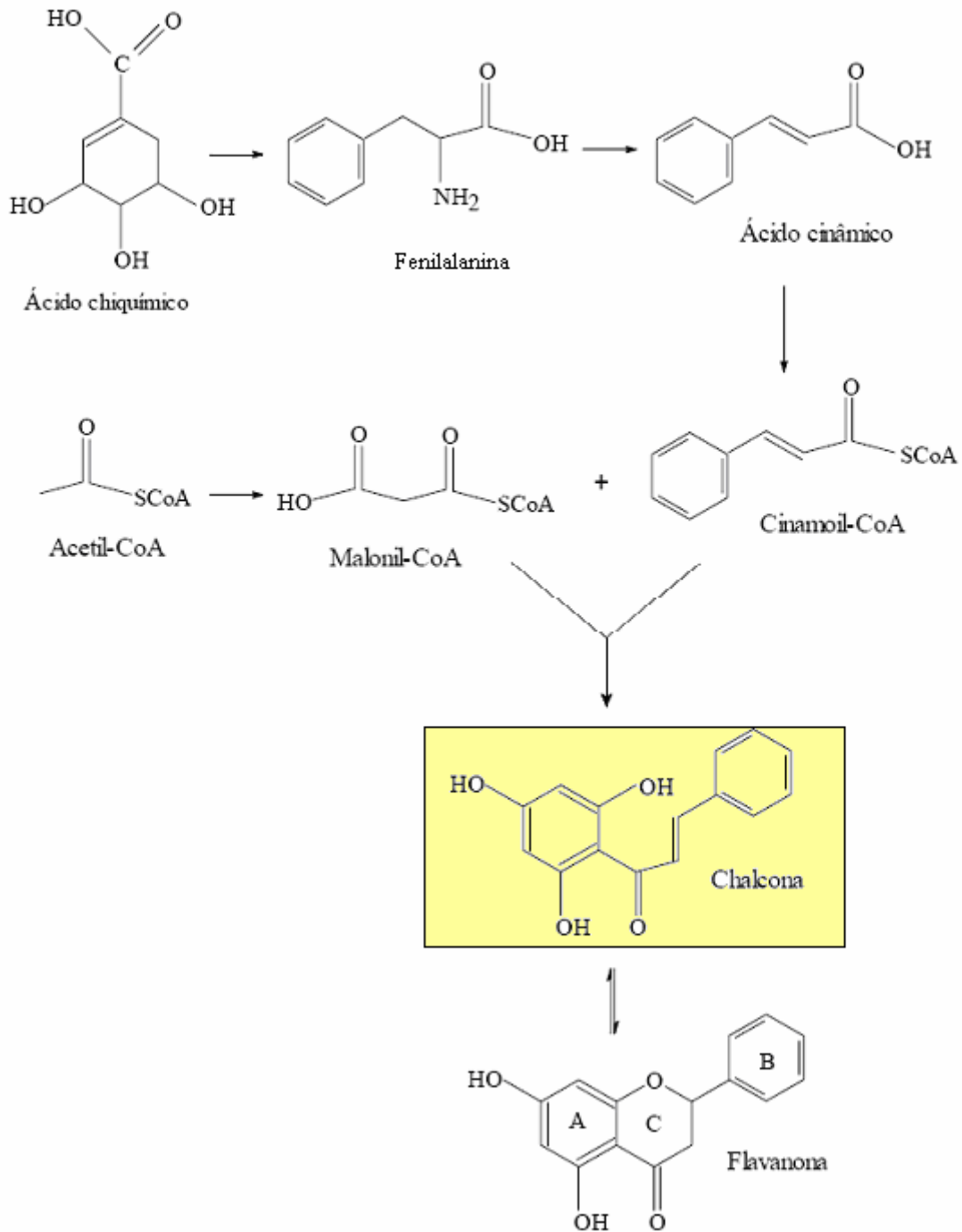
### **1.5.1 Flavonóides**

Os flavonóides constituem uma importante classe de polifenóis de ocorrência natural, encontrados em raízes, frutas, caule, folhas, sementes e casca de diversas plantas, frutas e vegetais. Estruturalmente, possuem um núcleo fundamental com 15 átomos de carbono, formado por dois anéis aromáticos ligados entre si por uma cadeia de três átomos de carbono (C6-C3-C6). A Figura 02 mostra o núcleo fundamental dos flavonóides e a numeração dos átomos de carbono com a denominação de cada anel (SIMÕES et al., 2001).



**Figura 02.** Núcleo fundamental dos flavonóides

De um modo geral, estes compostos diferem entre si pelo número e pela posição dos grupos substituintes nos anéis A, B e C, além da presença ou não da dupla ligação e da carbonila no anel C. Além disso, podem ser encontrados derivados glicosilados, metilados, acetilados ou sulfatados. Os flavonóides são formados a partir de duas rotas biossintéticas distintas (figura 03): a do ácido chiquímico o qual originará a fenilalanina, o precursor do ácido cinâmico e a do acetato, via ácido malônico. Então, a rota biossintética dos flavonóides se dá a partir de três moléculas de malonil-CoA e uma molécula de cinamoil-CoA. Este último é responsável pela formação do anel B e pela ponte de três carbonos, enquanto que o malonil-CoA é responsável pelo anel A da flavona (SIMÕES et al., 2001).



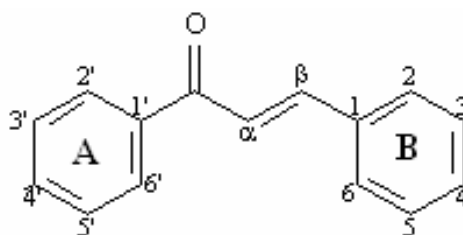
**Figura 03.** Esquema da rota biossintética das chalconas e flavonóides

Os animais obtêm bioflavonóides através da dieta, já que não possuem a capacidade de sintetizá-los. Há grande interesse nas aplicações terapêuticas de flavonóides para o tratamento e prevenção de doenças, sendo que uma variedade de atividades biológicas já foram relatadas, incluindo a capacidade antioxidante, antiinflamatória e antitumoral (HARBORNE;

WILLIAMS, 2000). Em estudos realizados por nosso grupo, demonstrou-se que a fração *n*-butanólica das folhas da espécie vegetal *Bauhinia forficata* foi efetiva em diminuir os níveis de glicose sanguínea em animais normoglicêmicos e diabéticos induzidos com aloxano (SILVA et al., 2002). Dando continuidade a este estudo, verificou-se que o canferitrim, flavonóide isolado das folhas da *Bauhinia forficata*, promoveu a captação de glicose em músculo sóleo de ratos como também demonstrou efeito hipoglicemiante em animais diabéticos induzidos com aloxano, tanto o composto isolado quanto complexado com o vanádio. Outro flavonóide estudado na glicemia de ratos diabéticos foi o canferol-3-neohesperidosídeo, isolado do caule da *Cyathea phalerata*, onde também encontrou-se efeito hipoglicemiante e, quando complexado com vanádio, houve aumento da atividade insulino-mimética deste composto e extensão do período hipoglicemiante quando comparado à insulina (DE SOUSA et al., 2004; JORGE et al., 2004; CAZAROLLI et al., 2006).

### 1.5.2 Chalconas

Nas plantas, as chalconas são precursoras dos flavonóides. Estruturalmente, possuem como núcleo fundamental o 1,3-diarilpropano, modificado pela presença de uma ligação olefínica, grupamento cetona e/ou hidroxila. São caracterizadas pela abertura do anel oxigenado, levando à formação de uma ligação dupla com os carbonos denominados  $\alpha$  e  $\beta$  em função da carbonila. Contrariamente à maioria dos outros flavonóides, o núcleo A das chalconas é identificado com números ordinários seguidos de uma linha ( ' ) e o núcleo B somente com números ordinários (figura 04) (ZUANAZZI, 2001).



**Figura 04:** Núcleo fundamental das chalconas (1,3-difenil-2-propenona)

As chalconas são de grande interesse químico e farmacológico, por apresentarem diversas atividades biológicas, as quais variam conforme os diferentes substituintes destas moléculas. Na literatura, são referenciados efeitos antibacteriano (SATO et al., 1996;

NIELSEN et al., 2004), incluindo atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* (LALL; HUSSEIN; MEYER, 2006), antifúngico (BATOVSKA et al., 2006), antiviral (KIAT et al., 2005), inclusive com atividade anti-HIV (CHEENPRACHA et al., 2006), antimalárico (KARTHIKEYAN; HOLLA; KUMARI, 2006; VALLA et al., 2006), antiinflamatório (DESHPANDE, et al., 1999; HERENCIA et al., 2001; AHMAD et al., 2006; ISRAF et al., 2007), anti-agregante plaquetário (ZHAO, et al., 2005) e anticarcinogênico (JUNG, et al., 2005; DEMULLE, et al., 2006; LIU; GO, 2006; LAWRENCE et al., 2006; MODZELEWSKA et al., 2006).

Com relação a atividade anti-hiperglicêmica, estudos demonstram que chalconas isoladas das raízes da *Broussonetia papyrifera* exercem atividade inibitória sobre as proteínas tirosina fosfatases (PTP 1B), enzima responsável pela desfosforilação, e conseqüente inativação do receptor de insulina. A atividade inibitória desses compostos é diretamente proporcional à quantidade de substituintes apolares (CHEN et al., 2002). Também, em outro estudo, demonstrou-se que chalconas derivadas de ariloxipropanolaminas apresentam potente atividade anti-hiperglicêmica, quando administradas em ratos hiperglicêmicos, e em ratos diabéticos induzidos e com streptozotocina (SATYANARAYANA, et al., 2003). Kamei e colaboradores (2003), em estudos realizados em adipócitos, identificaram derivados de chalconas que estimulam a captação de glicose e também potenciam a captação de glicose estimulada por insulina nestas células. Assim, considerando os estudos promissores com relação à atividade hipoglicemiante das chalconas e também o fato destas serem precursoras dos flavonóides, as chalconas e seus derivados tornam-se interessante fonte de estudo para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento do diabetes.

### 1.5.3 Xantonas

As xantonas são compostos naturais biologicamente ativos e amplamente distribuídos em plantas da família Polygalaceae (CRISTIANO et al., 2003). O gênero *Polygala* é um dos 13 gêneros da família Polygalaceae e está representado por aproximadamente 600 espécies distribuídas em todo o mundo, com exceção da Nova Zelândia e regiões Árticas (ZOMLEFER, 1994). No estado de Santa Catarina são 19 espécies catalogadas na Flora Ilustrada Catarinense (WURDACK et al., 1971), das quais as mais estudadas são *Polygala sabulosa*, *Polygala cyparissias* e *Polygala paniculata*.

As investigações químicas do gênero *Polygala* apresentam a ocorrência de várias classes de compostos, entre as quais, além das xantonas (CAMPOS et al., 1997; PINHEIRO et al., 1998; LI et al., 1999; JIANG, 2002; CRISTIANO et al., 2003), destacam-se cumarinas (PIZZOLATTI et al., 2002; HAMBURGER et al., 1985), estirilpironas (PIZZOLATTI et al., 2000; 2004), saponinas (HADDAD et al., 2003; YABE et al., 2003) e flavonóides (CERVELATTI et al., 2004).

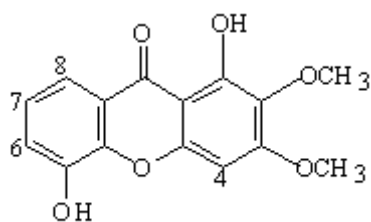
A *P. paniculata* (Figura 05) é conhecida popularmente como barba-de-são-joão, barba-de-são-pedro, bromil, arrozinho, alecrim-de-santa-catarina ou vassourinha. É uma erva ereta, de aparência delicada, bastante ramificada, de 25-40 cm de altura, com ramos finos, distribuída em regiões subtropical e tropical do continente americano (HAMBURGER et al., 1985). Folhas simples e flores pequenas, de cor branca, reunidas em panículas terminais. As raízes, assim como as de outras espécies do mesmo gênero, possuem forte aroma de salicilato de metila (PINHEIRO et al., 1998; PIZZOLATTI et al., 2000; LORENZI; MATOS, 2002).



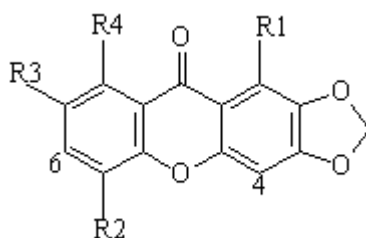
**Figura 05.** Espécie vegetal *Polygala paniculata*

Duas xantonas provenientes da *P. paniculata* já foram isoladas, como 1,5-diidróxi-2,3-dimetóxi-xantona (Figura 06) e 1-hidróxi-5-metóxi-2,3-metilenodioxixantona (Figura 07). Além disso, também foram identificadas como constituintes químicos desta planta as cumarinas, como febalosina e a murrangatina (CRISTIANO et al., 2003).





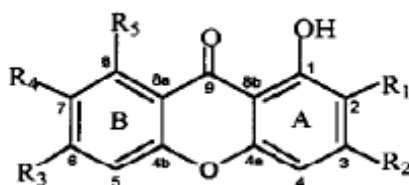
**Figura 06.** 1,5-diidróxi-2,3-dimetoxixantona



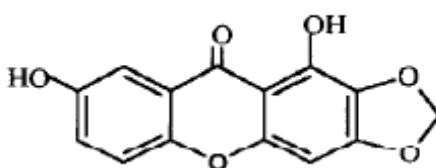
**Figura 07.** 1-hidróxi-5-metóxi-2,3-metilenodioxixantona (R1=OH; R2= OMe; R3=H; R4=H).

Estudos anteriores desta planta apresentaram atividade moluscicida, antifúngica (HAMBURGER et al., 1985) e neuroprotetora (FARINA et al., 2005). Na medicina natural brasileira é utilizada como antiblenorrágica, vomitiva, purgativa e diurética (LORENZI; MATOS, 2002). Entretanto, ainda não foi relatada atividade antidiabética de compostos provenientes desta planta.

As Xantonas, como já mencionado anteriormente, também são constituintes fitoquímicos da *Polygala cyparissias* (CAMPOS et al., 1997), popularmente conhecida como “pinheirinho-da-praia”, “avenca-da-praia” ou “timutu”. É uma planta pequena, que cresce na costa sul do Brasil como uma típica vegetação de dunas. Investigações fitoquímicas identificaram seis xantonas presentes no extrato acetato de etila desta planta, dentre elas, 1,3-diidróxi-7-metoxixantona; 1,7-diidróxi-2,3-dimetoxixantona; 1,3,6,8-tetraidróxi-2,7-dimetoxixantona; 1,3,7-triidróxi-2-metoxixantona; 1,3,6-triidróxi-2,7-dimetoxixantona (figura 08) e 1,7-diidróxi-2,3-metilenodioxixantona (figura 09). Além disso, já foram identificadas como constituintes fitoquímicos desta planta as cumarinas, as saponinas, as lignanas e os flavonóides (PINHEIRO et al., 1998).



**Figura 08.** Derivados da metoxixantona. 1,3-diidróxi-7-metoxixantona ( $R_1 = H$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = H$ ;  $R_4 = OMe$ ;  $R_5 = H$ ); 1,7-diidróxi-2,3-dimetoxixantona ( $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = OMe$ ;  $R_3 = H$ ;  $R_4 = OH$ ;  $R_5 = H$ ); 1,3,6,8-tetraidróxi-2,7-dimetoxixantona ( $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = OH$ ;  $R_4 = OMe$ ;  $R_5 = OH$ ); 1,3,7-triidróxi-2-metoxixantona ( $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = H$ ;  $R_4 = OH$ ;  $R_5 = H$ ); 1,3,6- triidróxi-2,7-dimetoxixantona ( $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = OH$ ;  $R_4 = OMe$ ;  $R_5 = H$ )



**Figura 09.** 1,7-diidróxi-2,3-metilenodioxixantona

Esta espécie é utilizada na medicina popular como anestésico de uso tópico devido à alta concentração de salicilato de metila (PINHEIRO et al., 1998). Trabalhos anteriores demonstraram a ação anti-nociceptiva da *P. cyparissias*, tanto pela via oral como intraperitoneal. Este efeito foi tanto contra a nocicepção inflamatória como a neurogênica e, também, este extrato preveniu a hiperalgesia induzida pela substância P e pela bradicinina (CAMPOS et al., 1997). Entretanto, assim como a *P. paniculata*, ainda não foi relatada atividade antidiabética desta planta.

Além das plantas da família Polygalaceae, outras espécies também possuem como constituintes fitoquímicos as xantonas, como a *Anemarrhena asphodeloides* (MIURA et al., 2001), a *Mangifera indica* (MURUGANANDAN et al., 2005), a *Swertia chirayita* (SAXENA et al., 1993) e a *Swertia japonica* (BASNET et al., 1995). Recentemente, foi demonstrado que a mangiferina, xantona glicosídica isolada das folhas da *M. indica* e do rizoma da *A. asphodeloides*, possui um significativo efeito anti-hiperglicêmico e anti-aterogênico (MURUGANANDAN et al., 2005). Este composto foi também indicado como um forte agente anti-hiperinsulêmico (MIURA et al., 2001). Em estudos anteriores, constatou-se que *swerchirina*, xantona isolada da *S. chirayita*, aumentou a captação de glicose e síntese de glicogênio no músculo *in vitro* e elevou a liberação de insulina estimulada por glicose em ilhotas isoladas. (SAXENA et al., 1993) e, além disso, também diminui os níveis sanguíneos

de glicose em ratos diabéticos induzidos com estreptozotocina (SAXENA, et al., 1991). Outro potente agente hipoglicemiante é a belidifolina, isolada da *S. chirayita*, sendo esta propriedade demonstrada tanto em ratos normoglicêmicos como em diabéticos induzidos com estreptozotocina. Entretanto, embora alguns dados sejam citados na literatura sobre os efeitos das xantonas na glicemia de ratos normoglicêmicos e/ou diabéticos, o efeito destes compostos e/ou frações ricas em xantonas, bem como o mecanismo de ação das xantonas não estão esclarecidos.

## 2 JUSTIFICATIVA

O diabetes melito é o nome dado a um grupo de desordens com diferentes etiologias (O'BRIEN; GRANNER, 1996). É uma patologia que requer cuidados rigorosos, principalmente com a alimentação, a prática de atividades físicas e o uso de medicação específica. No caso do diabetes tipo 1, esta é feita à base de insulina, enquanto que no diabetes tipo 2 incluem o uso de hipoglicemiantes orais.

Ainda que na maioria das vezes sem comprovação científica, o uso de produtos naturais de origem vegetal, animal e mineral são a principal base da terapêutica. Alternativas como a utilização de plantas tornou-se uma prática cada vez mais difundida em função do baixo custo e fácil obtenção. Porém, devido à falta de comprovação científica, o tratamento pode tornar-se prejudicial ao paciente, devido ao uso inadequado de determinadas espécies vegetais.

As chalconas, precursores dos flavonóides e isoflavonóides, são originalmente isoladas de fontes naturais, como as plantas. Muitos trabalhos têm mostrado uma variedade de propriedades biológicas, incluindo anti-inflamatórias, anti-oxidantes, anti-bacterianas, e anti-carcinogênicas (DIMMOCK et al., 1999). Uma ampla série de efeitos biológicos das chalconas e derivados de chalconas foi descrita na literatura, tanto em estudo de modelos experimentais *in vivo* quanto *in vitro*, no entanto, pouco está claro quanto ao efeito desta classe de compostos no diabetes melito (KAMEI et al., 2003; SEO et al., 2005). O principal interesse no estudo das chalconas não reside somente pelo fato destas substâncias terem um possível efeito hipoglicemiante, mas por serem moléculas precursoras na via de biossíntese dos flavonóides amplamente encontrado em plantas e de corrente estudo neste laboratório (SILVA et al., 2002; DE SOUSA et al., 2004; JORGE et al., 2004; CAZAROLLI et al., 2006; ZANATTA et al., 2007). Conforme demonstrado por Kamei e colaboradores (2003), o derivado 2'-benziloxichalcona estimulou a captação de glicose em linhagem de células do tecido adiposo, a 3T3-L1, através de um mecanismo envolvendo a regulação da fosfatidil inositol 3-quinase (PI3K). Para os estudos com derivados de chalconas contendo grupos sulfonamidas, inibiram especificamente a atividade das alfa-glicosidases apontando um possível papel na regulação da glicemia através desta via (SEO et al., 2005). No presente trabalho, o estudo das chalconas análogas teve como objetivo caracterizar novos compostos

com ação hipoglicemiante, principalmente focalizado num modelo experimental (hiperglicemia induzida em animais normoglicêmicos), que permitiu avaliar a ação secretagoga de diferentes compostos sintéticos e naturais.

## 3 OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi investigar a influência de chalconas análogas, xantonas e monossacarídeos na glicemia em ratos normoglicêmicos, hiperglicêmicos e diabéticos.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o modelo diabético experimental utilizando o aloxano como agente diabetogênico.
- Estudar a glicemia em função do tempo de ação da tolbutamida, insulina lispro e insulina regular em ratos hiperglicêmicos.
- Estudar a glicemia em função do tempo de ação de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, 2-naftaldeído e xantoxilina na glicemia de ratos hiperglicêmicos.
- Comparar os efeitos hipoglicemiantes das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, 2-naftaldeído e xantoxilina com a ação hipoglicemiante da insulina, e da tolbutamida em ratos hiperglicêmicos.
- Estudar o efeito do ácido glicônico e tartárico na glicemia de ratos normoglicêmicos e hiperglicêmicos.
- Estudar o efeito do ácido glicônico e tartárico na glicemia de ratos diabéticos
- Determinar a curva dose-resposta do extrato bruto etanólico (EBEtOH) da *Polygala paniculata* e da fração acetato de etila (AcEt) da *Polygala cyparissias*, na glicemia de ratos hiperglicêmicos.
- Determinar a curva de dose-resposta do EBEtOH da *P. paniculata* e da fração AcEt da *P. cyparissias* na glicemia de ratos diabéticos.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1. Reagentes

Glicose PP – Kit utilizado para dosagem da glicemia pelo método enzimático da glicose oxidase da Gold Analisa Diagnóstica LTDA, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Aloxano - Monohidrato de aloxano; Sulfato de vanádio foram obtidos da Aldrich Chemical Company, Milwaukee, USA.

Insulina – Insulina Lispro (Humalog®), laboratório Eli Lilly e insulina Regular (R) (Biohulin®), laboratório Biobrás.

Ácido glicônico (sal potássico) – Sigma e Aldrich.

Ácido L (+) tartárico – Vetec Química Fina LTDA.

D (+) glicose anidra (dextrose) – Vetec Química Fina LTDA.

### 4.2 Soluções

Aloxano - Monohidrato de aloxano, 98%, utilizada na concentração de 50 mg/kg de peso corporal em solução fisiológica (NaCl 0,9%).

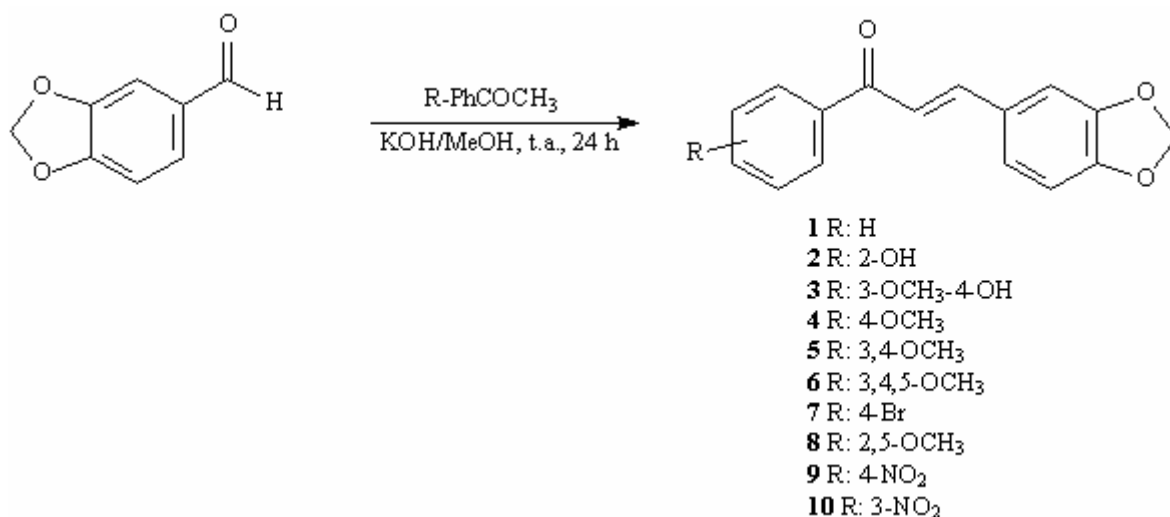
### 4.3 Preparação das chalconas análogas

A preparação das chalconas análogas foi de responsabilidade do Prof. Dr. Rosendo A. Yunes, do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

#### 4.3.1 Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído.

Em um balão de 100 ml, foi colocado o 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (1,5g; 10 mmol), a acetofenona (10 mmol) e metanol (30 ml). Os reagentes foram dissolvidos sob

agitação magnética e em seguida KOH 50% v/v (10 ml) foi adicionado. Deixou-se a reação sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Após este período, água destilada foi adicionada à reação, sendo a mesma acidificada com ácido clorídrico 10%, o que provocou a precipitação dos compostos. Filtrou-se em funil de Büchner; a pureza foi verificada por cromatografia de camada delgada (CCD) e, quando necessário, as chalconas foram recristalizadas em hexano e diclorometano ou purificadas por coluna cromatográfica.

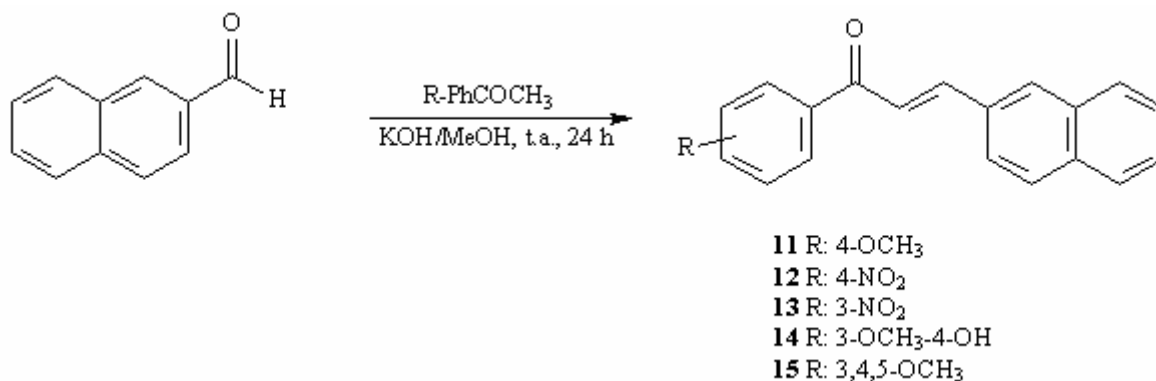


**Figura 10.** Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído.

#### 4.3.2 Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2-naftaldeído

Em um balão de 100 ml, foi colocado 2-naftaldeído (0,78g; 5 mmol), a acetofenona (5 mmol) e metanol (30 ml). Os reagentes foram dissolvidos sob agitação magnética e, em seguida, foi adicionado KOH 50% v/v (10 ml). Deixou-se a reação sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Após este período água destilada foi adicionada à reação e a mesma foi acidificada com ácido clorídrico 10%, o que provocou a precipitação dos compostos. Filtrou-se em funil de Büchner, sendo a pureza verificada por CCD e, quando necessário, as chalconas foram recristalizadas em hexano e diclorometano ou purificadas por coluna cromatográfica.

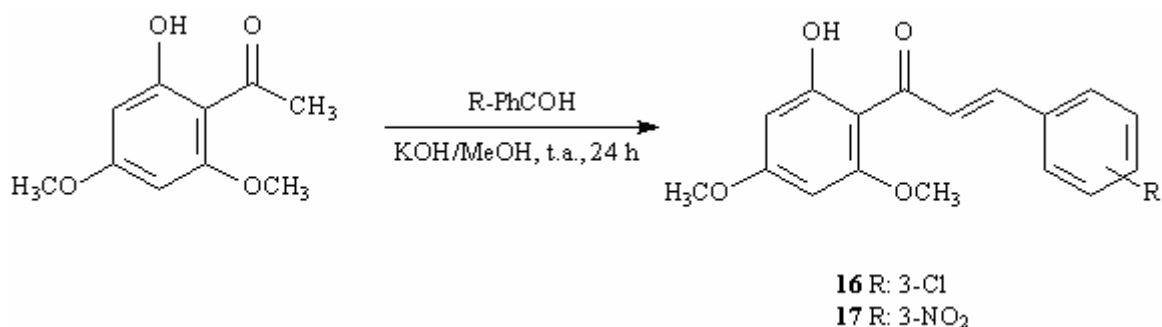




**Figura 11.** Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2-naftaldeído.

#### 4.3.3 Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2,4,6-trimetóxi-acetofenona

Em um balão de 50 ml, foi colocado o 2,4,6-trimetóxi-acetofenona (0,25g; 1,2 mmol), o aldeído (1,2 mmol) e metanol (20 ml). Os reagentes foram dissolvidos sob agitação magnética e, em seguida, KOH 50% v/v (5 ml) foi adicionado. A reação ficou sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Após este período, adicionou-se água destilada à reação, e a mesma foi acidificada com ácido clorídrico 10%, o que provocou a precipitação dos compostos. Filtrou-se em funil de Büchner, foi verificada a pureza por CCD e, quando necessário, as chalconas foram recristalizadas em hexano e diclorometano ou purificadas por coluna cromatográfica.



**Figura 12.** Procedimento geral para a preparação das chalconas derivadas do 2,4,6-trimetóxi-acetofenona

## **4.4 Coleta, identificação e preparação dos extratos da *Polygala paniculata* e *Polygala cyparissias***

### **4.4.1 Coleta**

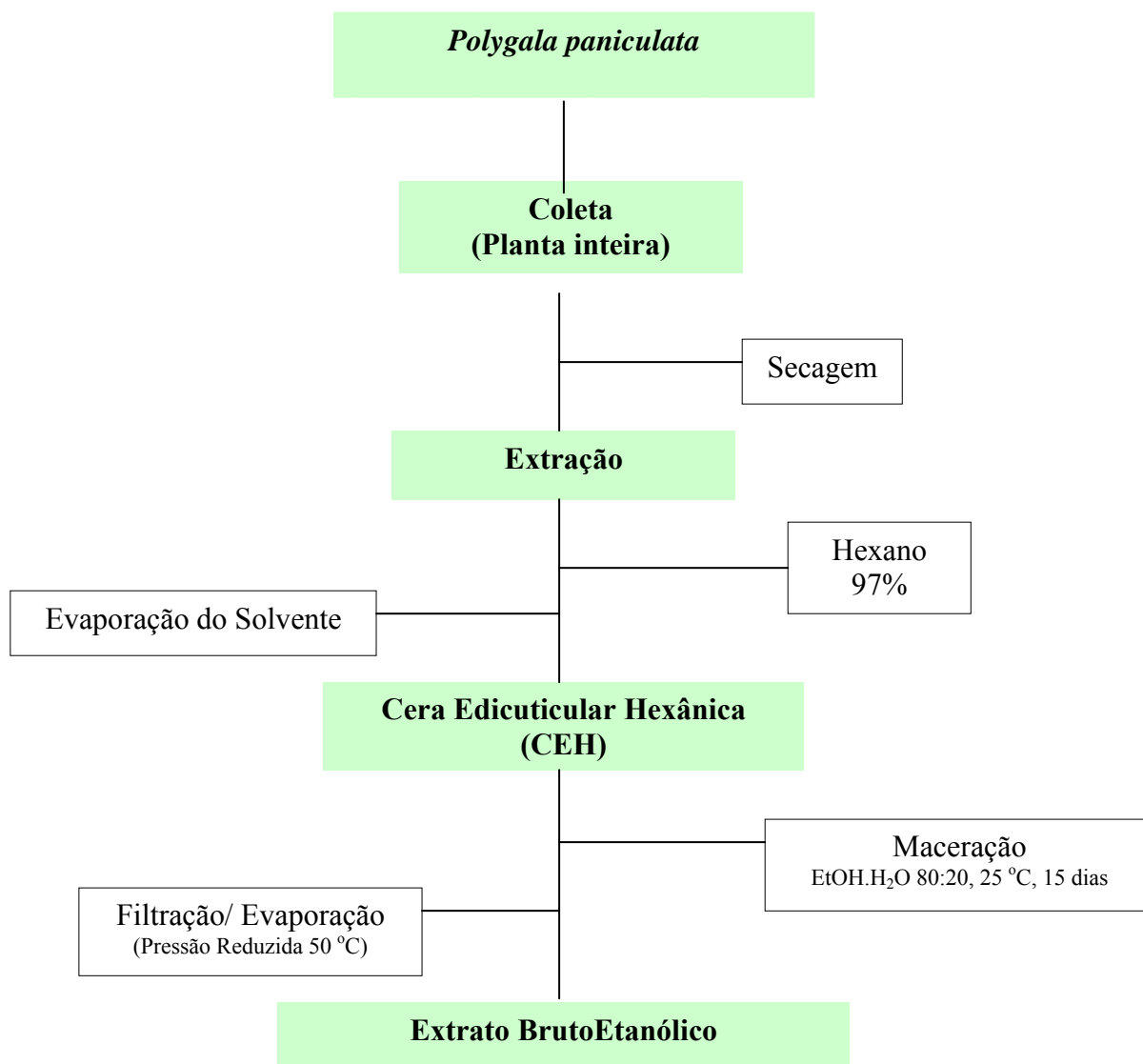
A coleta, a identificação da planta e a obtenção do extrato bruto etanólico proveniente da *P. paniculata* contendo xantonas, foram de responsabilidade do Prof. Dr. Moacir G. Pizzolatti, do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

A espécie vegetal *P. paniculata* (planta inteira) foi coletada no mês de março de 2004 na praia Daniela em Florianópolis, SC, e identificada pelo Professor Olavo Araújo Guimarães, do Departamento de Botânica da UFPR, e a exsicata depositada sob o registro UPCNB 26027.

A coleta da *Polygala cyparissias* foi realizada entre a vegetação das ante-dunas nas praias da Daniela e Jurerê em Florianópolis no estado de Santa Catarina. O material botânico foi identificado pela Profa Leila da Graça Amaral, do Departamento de Botânica da UFSC, Florianópolis, Brasil. A exsicata desta planta está depositada no herbário FLOR-22744, no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **4.4.2 Preparação do extrato bruto etanólico (EBEtOH) da *Polygala paniculata***

A planta inteira (folha, caule, raiz e flores) foi seca e extraída primeiramente com hexano 97% (para evitar a formação de artefatos cumarínicos), durante 24 horas, à temperatura ambiente (25 °C). Com a evaporação do solvente, obteve-se a cera edicuticular hexânica (CEH). O material vegetal foi macerado exaustivamente com EtOH:H<sub>2</sub>O aquoso (80:20), à temperatura ambiente (25 °C) por 15 dias em recipiente fechado. Após a fase de maceração, o extrato foi filtrado em papel filtro e o solvente foi evaporado à pressão reduzida (50 °C) em evaporador rotativo, obtendo-se assim, 300 g do extrato bruto etanólico (EBEtOH) (PINHEIRO et al., 1998; LORENZI et al., 2002). A figura 13 representa esquematicamente os procedimentos experimentais para obtenção do EBEtOH da *P. paniculata*.



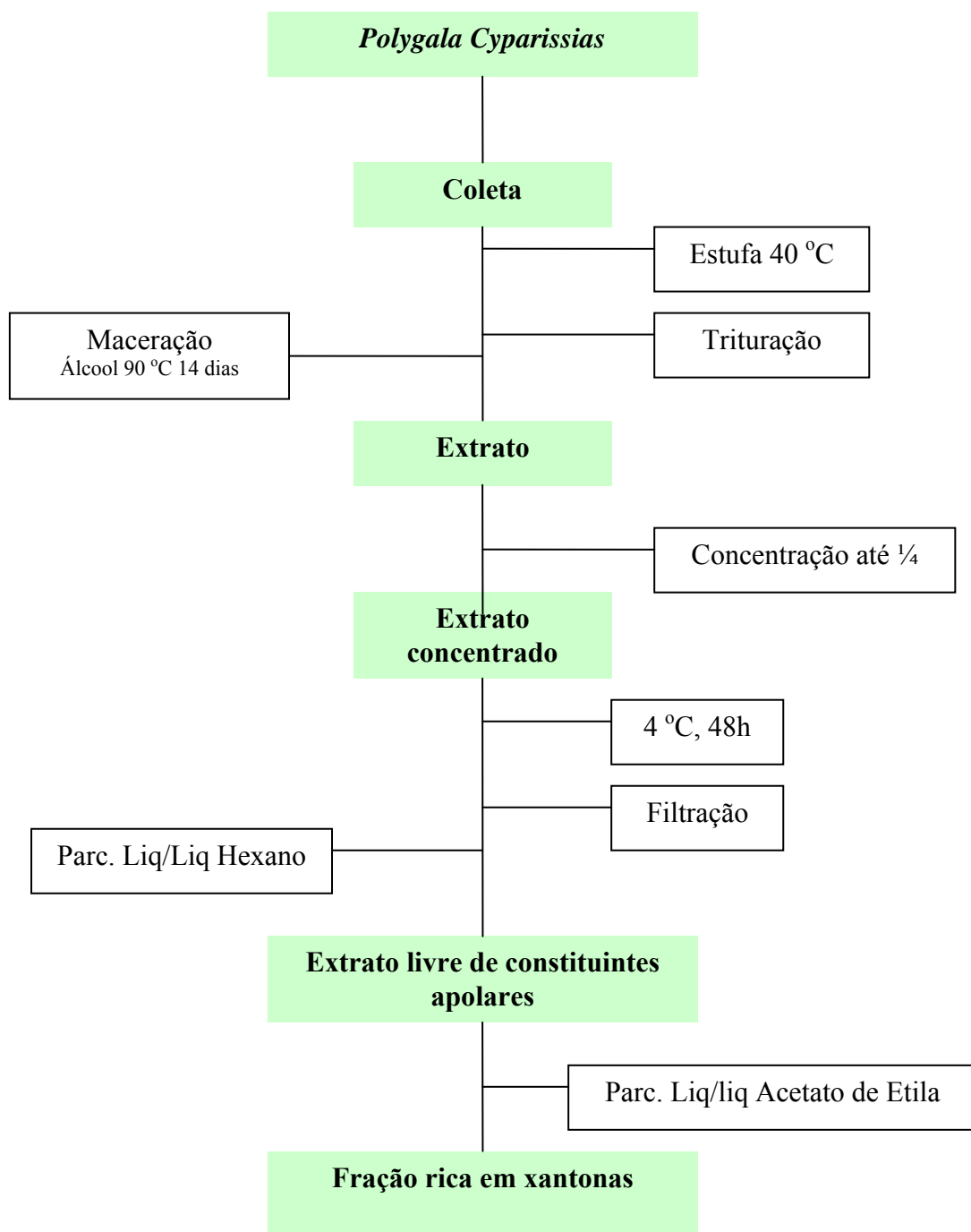
**Figura 13.** - Representação esquemática da preparação do extrato bruto etanólico (EBEtOH) da *Polygala paniculata*.

#### 4.4.3 Preparação da fração acetato de etila (EAcEt) da *Polygala cyparissias*

Após a coleta, o material vegetal foi colocado para secar em estufa (de secagem) com circulação de ar, à temperatura média de 40 °C. Após seco, foi finamente triturado e colocado em maceração com solução hidroalcoólica (álcool 90 %) por 14 dias. O extrato obtido foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório até reduzir o volume para aproximadamente  $\frac{1}{4}$ . O extrato concentrado foi mantido sob refrigeração (4 °C) por 48 horas e então filtrado para a remoção das ceras e graxas. O extrato filtrado foi submetido a uma extração por particionamento líquido-líquido com hexano, para extrair os constituintes

apolares. Na seqüência, foi feito o extrato acetato de etila, por particionamento líquido-líquido com acetato de etila, obtendo-se assim, a fração rica em xantonas (CAMPOS et al., 1997).

A figura 14 representa esquematicamente os procedimentos experimentais para obtenção da fração acetato de etila (AcEt) da *Polygala cyparissias*.



**Figura 14.** Representação esquemática da preparação da fração acetato de etila (AcEt) da *P. cyparissias*

## 4.5 Animais e tratamentos

O estudo da bioatividade do extrato bruto etanólico da *P. paniculata*, extrato acetato de etila da *P. cyparissias*, monossacarídeos, derivados de chalconas, insulina e tolbutamida foram realizados no Laboratório de Hormônios & Transdução de Sinais, sob a responsabilidade da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fátima Regina Mena Barreto Silva, orientadora desta dissertação.

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos entre 50–54 dias de idade (180-250g), mantidos em gaiolas plásticas com alimento e água à vontade até o início dos tratamentos. A temperatura da sala foi mantida entre  $21 \pm 2$  °C e com ciclo de 12 horas claro/12 horas escuro. Animais, descritos como jejum, foram privados de comida por 16 horas, mas com acesso livre à água. Os animais foram mantidos em concordância com as recomendações do Conselho Brasileiro de Medicina Veterinária e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, Protocolo PP 0001/CEUA, parecer favorável número 23080.008941/2005-67/UFSC, aprovado na reunião de 06/05/2005/ CEUA.

### 4.5.1 Animais diabéticos induzidos com aloxano

O diabetes foi induzido através de uma única injeção intravenosa de monohidrato de aloxano (Sigma) 5% em soro fisiológico, na dose de 50 mg/kg de peso corporal, em animais sob anestesia etérea. Esta solução foi sempre preparada imediatamente antes do uso. Três dias depois, foram coletadas amostras de sangue e os níveis de glicose foram determinados para confirmar o desenvolvimento do diabetes. Foram considerados diabéticos apenas ratos que apresentavam glicemia entre 350-450 mg/dL (DE SOUSA, et al., 2004; CAZAROLLI et al., 2006).



**Figura 15.** Indução do diabetes através da injeção intravenosa de aloxano na veia dorsal peniana.

#### **4.5.2 Administração de monossacarídeos (ácido glicônico e ácido tartárico) em animais normoglicêmicos**

Ratos em jejum foram divididos em dois grupos. Grupo I; controle não tratado e Grupo II; tratado. Os animais receberam diferentes doses de ácido glicônico (25, 50, 100, 200, 400 e 800 mg/kg de peso corporal) ou de ácido tartárico (100 e 400 mg/kg de peso corporal) via oral. Os monossacarídeos foram diluídos em solução fisiológica (NaCl 0,9%) antes da administração. As coletas de sangue foram realizadas nos tempos zero, 1, 2 e 3 horas, após o tratamento para a determinação da glicemia.

#### **4.5.3 Administração de chalconas, monossacarídeos (ácido glicônico e ácido tartárico), extrato da *Polygala paniculata*, fração da *Polygala cyparissias* ou tolbutamida por via oral e tratamento com insulina via intraperitoneal em animais hiperglicêmicos**

Ratos em jejum foram divididos em cinco grupos. Grupo I, controle não tratado; Grupo II, hiperglicêmico, recebeu somente glicose (4 g/kg de peso corporal); Grupo III, tratado, recebeu glicose (4g/kg de peso corporal) juntamente com as dosagens de 400 mg/kg de peso corporal do ácido glicônico ou, do ácido tartárico ou 800 mg/kg de peso corporal do extrato bruto etanólico da *P. paniculata* ou da fração acetato de etila da *Polygala cyparissias*, ou dosagem de 10 mg/kg de peso corporal do núcleo fundamental das chalconas, chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09 e

10), chalconas derivadas do 2-naftaldeído (compostos, 11, 12, 13, 14 e 15) ou chalconas derivadas da xantoxilina (compostos 16 e 17). Grupo IV recebeu glicose (4 g/kg de peso corporal) e 100 mg/kg de peso corporal de tolbutamida; grupo V recebeu glicose (4 g/kg de peso corporal) e insulina lispro 0,05 UI, ou insulina regular 0,5 UI. As amostras de sangue foram coletadas nos tempos conforme demonstrados nas respectivas figuras.

#### **4.5.4 Administração via oral e intraperitoneal do ácido glicônico e via oral do extrato bruto etanólico da *Polygala paniculata*, e extrato acetato de etila da *Polygala cyparissias*, em animais diabéticos induzidos com aloxano**

Ratos em jejum foram divididos em três grupos. Grupo I, diabético, não tratado; grupo II, tratado, recebeu dose de 50 mg/kg de peso corporal do ácido glicônico ou diferentes doses (400, 800 e 1200 mg/kg de peso corporal) do extrato bruto etanólico da *P. paniculata*; dose de 800 mg/kg de peso corporal do extrato acetato de etila (EAcEt) da *P. cyparissias*, via oral. Grupo III, tratado, recebeu dose de 100 mg/kg de peso corporal do ácido glicônico via intraperitoneal. Os níveis de glicose no plasma foram verificados nos tempos zero, 1, 2 e 3 horas após o tratamento.

#### **4.6 Coleta de sangue e determinação da glicemia**

Todos os animais estavam em jejum de 16 h antes da coleta de sangue. O sangue foi coletado por capilaridade pelo plexo retro-orbital em tubos de eppendorf. As amostras foram centrifugadas e imediatamente o soro foi separado. Aliquotas de 10 µl do soro (em duplicata) foram utilizados para dosar a glicose pelo método enzimático da glicose oxidase (GLICOSE PP da Gold Analisa Diagnóstica). As amostras foram incubadas por 10 minutos à temperatura ambiente (25 °C) e as absorbâncias foram lidas em um espectrofotômetro da marca GBC Scientific Equipment Pty LTDA, em 500 nm. Os resultados foram expressos em mg/dL de glicose. Para confirmação do estado diabético, nos animais tratados com aloxano, foi utilizado glicosímetro (Optium-MEDSENSE), sendo a coleta de sangue realizada pela cauda do rato. Todos os animais foram previamente anestesiados em câmara de éter antes da coleta de sangue. Após o término do experimento, os mesmos foram eutanasiados por decapitação em

guilhotina e as carcaças foram mantidas em refrigerador até o momento do descarte no lixo hospitalar.

#### **4.7 Análise estatística**

Os resultados foram expressos como a média  $\pm$  E.P.M. O número de animais utilizados para cada grupo é descrito nas respectivas legendas. As comparações estatísticas foram realizadas através da análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Bonferroni pelo programa INSTAT versão 3.0. As diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significativas para um “p” igual ou menor que 0,05. Para a análise comparativa entre dois grupos foi utilizado o teste “t” de Student.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização do Diabetes Experimental com Aloxano

Grupo	Peso Corporal (g) <sup>a</sup>	Glicemia (mg/dL) <sup>a</sup>
Normal	216,0 ± 5,95	94,91 ± 4,59
Aloxano (50mg/kg)	186,16 ± 5,57 <sup>b</sup>	384,60 ± 16,50 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Valores são expressos como média ± E.P.M, n=9 para cada grupo.

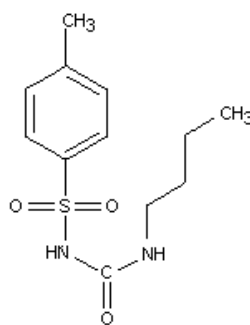
<sup>b</sup>Significante para  $p \leq 0,01$ .

<sup>c</sup>Significante para  $p < 0,0001$

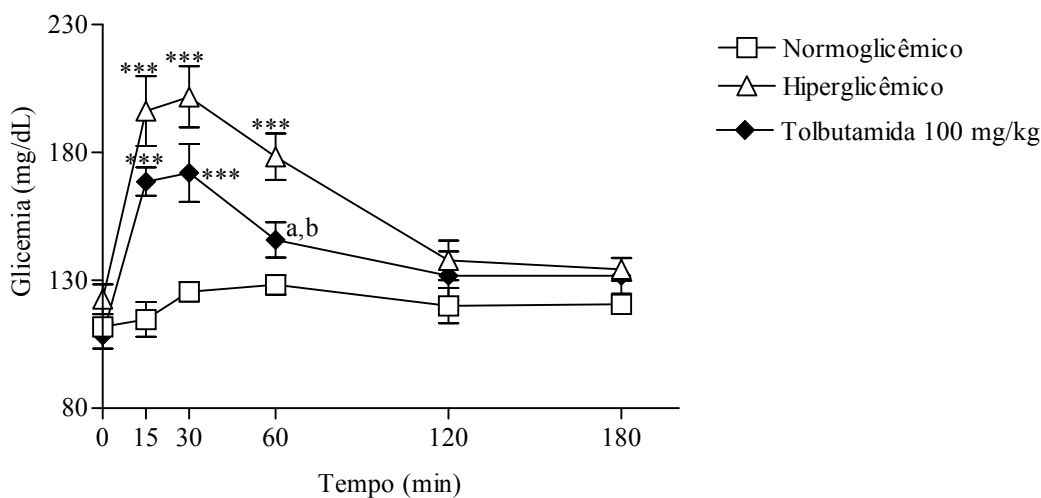
**Tabela 2.** Efeito do aloxano no peso corporal e glicemia após três dias de indução do diabetes<sup>a</sup>

A Tabela 2 apresenta os parâmetros analisados para a caracterização do diabetes experimental, como a glicemia e o peso corporal. Observa-se perda de peso corporal estatisticamente significativa após os três dias da indução do diabetes com aloxano, assim como elevação significativa na glicemia dos ratos tratados. Estes resultados comprovam o diabetes experimental neste modelo. Apoiados nestes parâmetros, todos os grupos normoglicêmicos e diabéticos, foram mantidos com estas características, considerando os erros experimentais permitidos ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.2 Efeito da tolbutamida na curva de tolerância à glicose



(A)



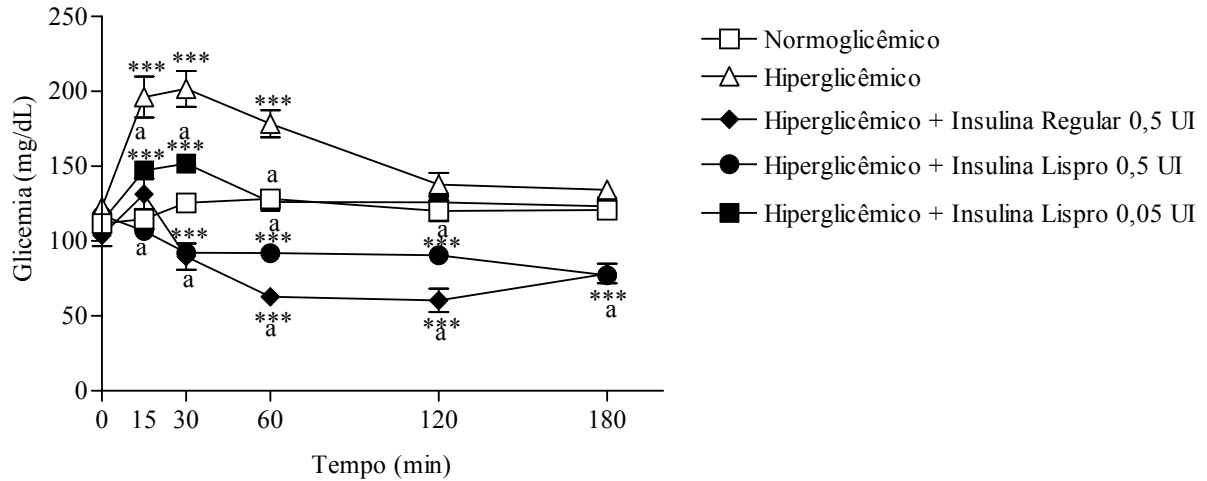
(B)

**Figura 16. A)** Estrutura química da tolbutamida. **B)** Efeito agudo da administração da tolbutamida via oral na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata ( $n=6$ ). Significante para \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao respectivo controle hiperglicêmico.

Na figura 16 B observa-se que em animais hiperglicêmicos, após 15 minutos da administração oral de glicose (4 g/kg), a glicemia aumentou significativamente. Os níveis hiperglicêmicos foram mantidos altos até os 60 minutos em relação ao tempo zero, e voltaram aos níveis basais aos 180 minutos. Este perfil caracterizou de maneira reproduzível a curva de tolerância à glicose neste modelo experimental.

A eficácia de ação da tolbutamida administrado pela via oral foi demonstrada utilizando-se a dosagem de 100 mg/kg de peso corporal. As sulfoniluréias, incluindo a tolbutamida (figura 16 A), produzem hipoglicemia em animais normoglicêmicos através da estimulação das células  $\beta$  pancreáticas, com conseqüente liberação de insulina. Entretanto, esses fármacos não são hábeis em diminuir a glicemia de animais diabéticos tratados com aloxano (DE SOUSA, 2004). A tolbutamida diminuiu o pico de hiperglicemia em 60 minutos (figura 15 B). Como a tolbutamida é um secretagogo de insulina, estes resultados são úteis para a comparação do efeito hipoglicemiante de substâncias com ações desconhecidas, quando for o caso.

### 5.3 Efeito da insulina lispro e insulina regular na curva de tolerância à glicose



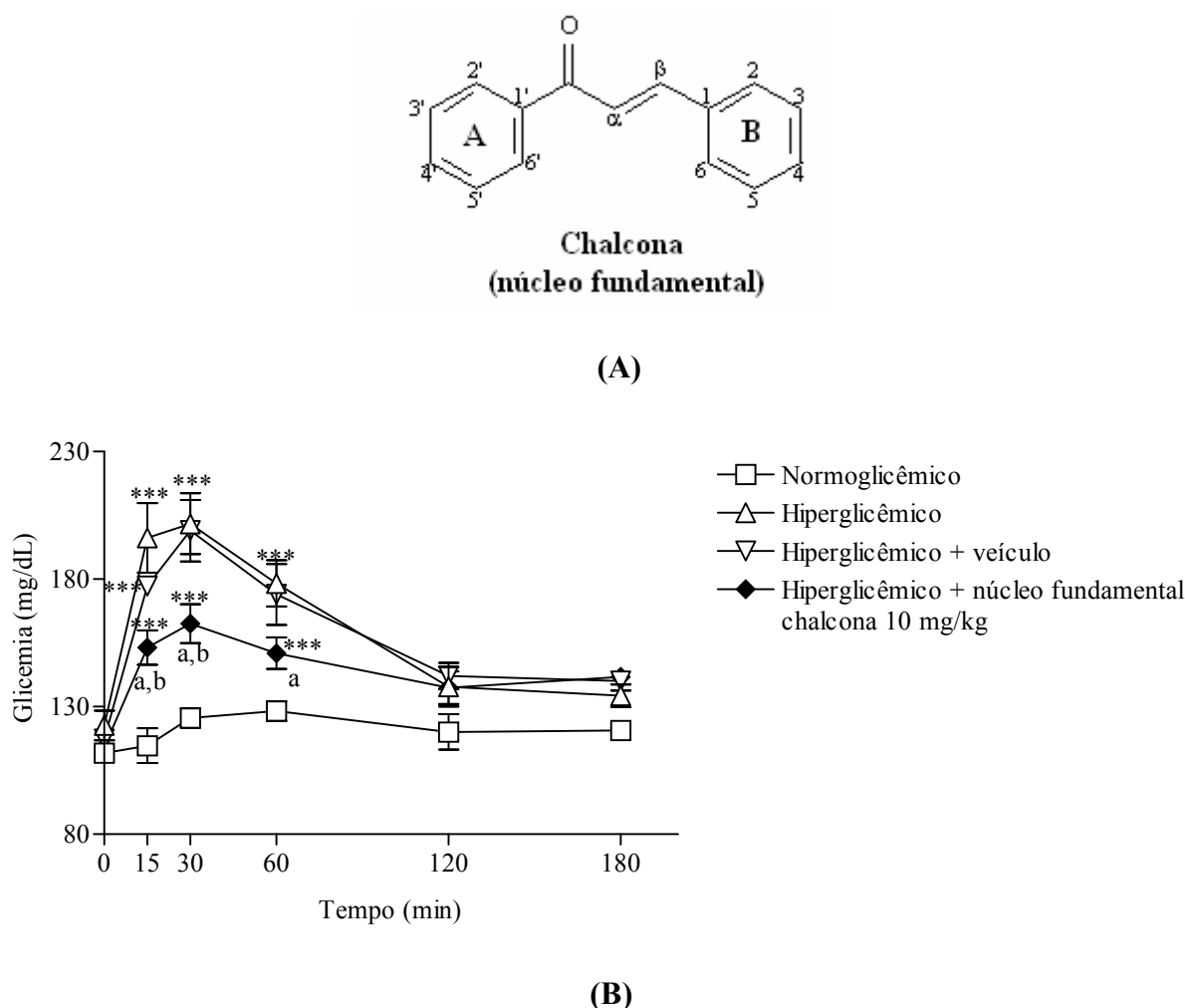
**Figura 17.** Efeito agudo da administração de insulina lispro e insulina regular via intraperitoneal na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=6). Significante para \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao respectivo controle hiperglicêmico.

A eficácia de ação de diferentes insulinas administradas pela via intraperitoneal foi demonstrada utilizando-se dosagens de 0,5 UI de insulina regular e 0,05 e 0,5 UI de insulina lispro. Tanto a insulina regular como a insulina lispro diminuíram o pico da glicemia, característico neste modelo experimental, já aos 15 minutos, após a administração do hormônio em todas as dosagens testadas. A insulina regular e a insulina lispro, nas dosagens de 0,5 UI mantiveram a glicemia significativamente abaixo dos níveis glicêmicos basais comparados ao grupo dos animais normoglicêmicos. Já com a insulina lispro na dosagem de 0,05 UI após impedir o pico hiperglicêmico aos 15, 30 e 60 minutos, característico deste modelo experimental, manteve a normoglicemia até o término do experimento. Estes resultados, além de traçarem um perfil do efeito imediato e efetivo máximo da ação da insulina neste modelo, também podem ser utilizados como padrão para possível comparação do efeito hipoglicemiante dos compostos testados. Em termos percentuais foram obtidos uma queda hipoglicêmica de 33 % para a insulina regular humana e 45,6 % e 25 % para a insulina lispro nas doses de 0,5 UI e 0,05 UI, respectivamente, aos 15 minutos, quando comparadas ao controle hiperglicêmico.

**5.4 ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
CHALCONAS NA GLICEMIA EM MODELO  
EXPERIMENTAL ANIMAL  
(PARTE I)**

### **5.4.1 NÚCLEO FUNDAMENTAL DAS CHALCONAS**

### 5.4.1 Efeito agudo da administração oral de chalcona (núcleo fundamental) na curva de tolerância à glicose



**Figura 18. A)** Núcleo fundamental das chalconas. **B)** Efeito agudo de chalcona (núcleo fundamental) na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=11). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^a p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^b p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

Em estudos *in vivo* realizados com chalconas análogas, verifica-se uma ampla diversidade de dosagens para as várias atividades biológicas deste composto, desde 4 mg/kg até 1000 mg/kg, por diferentes vias de administração. Entretanto, o maior número de trabalhos realizados encontra-se na faixa de 4-25 mg/kg (DOMINGUEZ et al., 2001; MONOSTORY et al., 2002; NOOKANDEN et al., 2004; ROJAS et al., 2003 PIÑERO et al., 2006; SHUUKLA et al., 2006). Assim, escolhemos uma dose intermediária (10 mg/kg) para a

realização dos experimentos. As curvas de dose-resposta foram realizadas somente para alguns compostos selecionados em função da resposta obtida na curva de tolerância à glicose.

A figura 18 B demonstra o efeito do núcleo fundamental das chalconas na curva de tolerância à glicose, quando administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal, via oral. Já em 15 minutos houve redução significativa da glicemia, quando comparado ao controle hiperglicêmico (21,8%) e ao controle hiperglicêmico com veículo (13,43%). No tempo de 30 minutos também ocorreu redução significativa da glicemia de 19,4 % e 18,32%, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo, respectivamente. Em 60 minutos, ocorreu redução significativa de 15,36% quando comparado ao controle hiperglicêmico.

É importante salientar que a estrutura do núcleo fundamental das chalconas é pequena, planar e, sendo assim, talvez atue em qualquer sítio ativo ou receptor, conferindo a este composto ampla diversidade de efeitos biológicos, como, por exemplo, além do efeito hipoglicemiante aqui demonstrado, a ação anticarcinogênica (HSU et al., 2005). Também, outra característica importante do núcleo fundamental das chalconas, é o fato deste ser apolar e, devido à solubilidade na membrana, o efeito pode ser inespecífico. Isto é verdadeiro pois, quando fizemos a curva de dose para os compostos que apresentaram bom efeito, não houve diferença entre as doses. No entanto, nos dois compostos que apresentaram efeito hipoglicemiante significativamente menor em relação ao núcleo fundamental, um deles demonstrou diferença na curva de dose-resposta, o que aponta um efeito específico. Para o desenvolvimento de novos fármacos, é interessante que este tenha como característica a especificidade de ação. Assim, diferentes substituintes em diferentes posições no núcleo fundamental das chalconas conferem a esses compostos uma variada atividade biológica, como: atividade anticarcinogênica (substituintes trimetóxi nas posições 3',4' e 5' do anel A) (LAWRENCE et al., 2006); inibidores da  $\alpha$ -glicosidase (chalcona sulfonamidas) (SEO et al., 2005); inibidores da aldose redutase (SEVERI et al., 1998); antihiperglicêmica (ariloxipropanolaminas) (SATYNARAYANA et al., 2003; NOZAWA, 2005); antiviral e antituberculose (prenilchalconas) (LALL; HUSSEIN; MEYER, 2006).

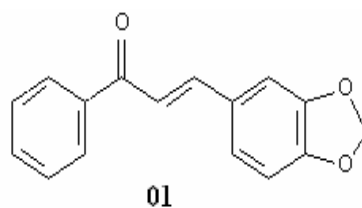
Portanto, um dos objetivos deste trabalho foi avaliar o efeito de uma nova série de chalconas, derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, 2-naftaldeído e xantoxilina na glicemia de ratos hiperglicêmico, e verificar uma possível atividade hipoglicemiante entre os

diferentes compostos, bem como comparar esta atividade com a tolbutamida (hipoglicemiante oral exógeno) e com a insulina (a terapia mais efetiva no combate a hiperglicemia).

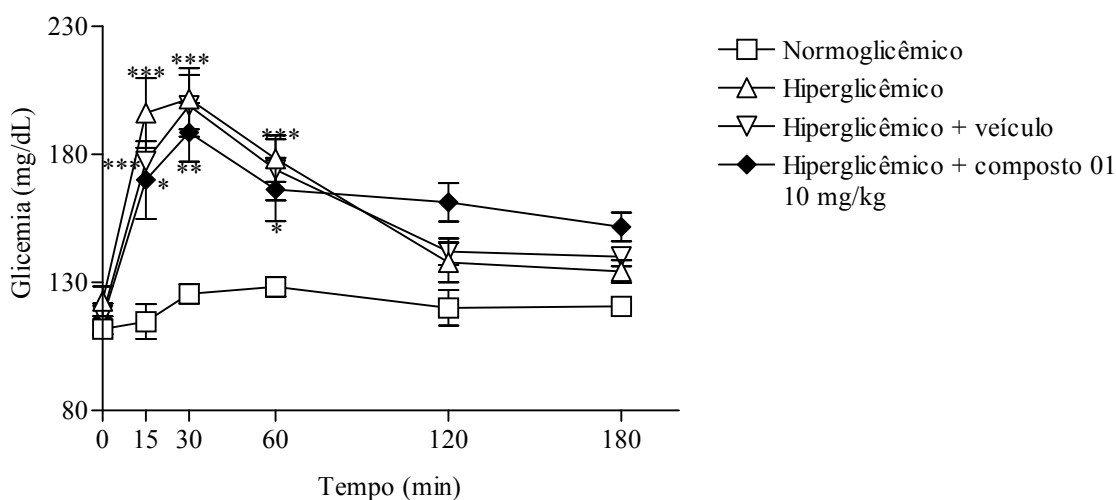


**5.4.2 CHALCONAS DERIVADAS DO  
3,4-METILENODIÓXI-BENZALDEÍDO  
(PIPERONAL OU 1,3-BENZODIOXOL-5-CARBOXALDEÍDO)**

#### 5.4.2.1 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-FENIL-2-PROPEN-1-ONA (composto 01) na curva de tolerância à glicose



(A)

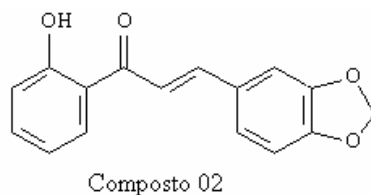


(B)

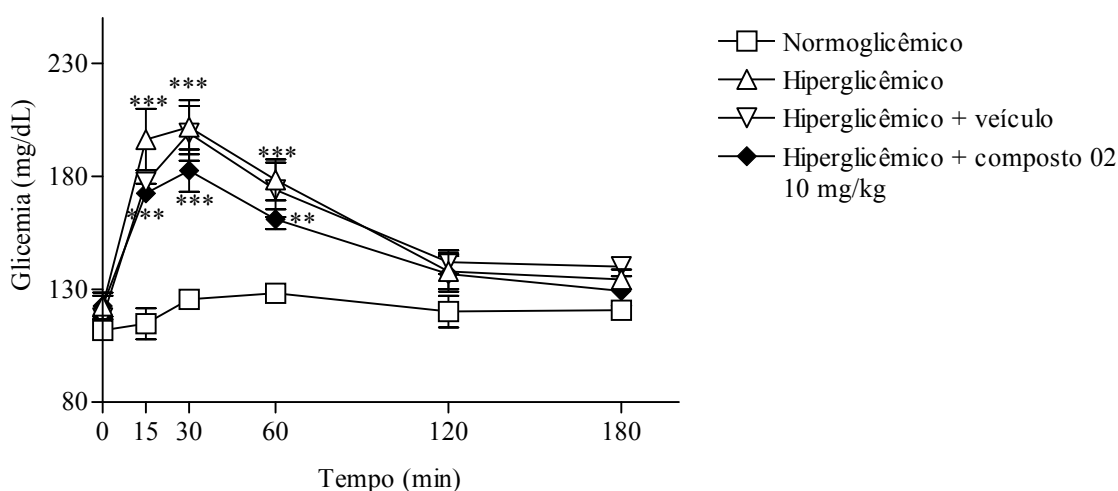
**Figura 19. A)** Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-FENIL-2-PROPEN-1-ONA (composto 01). **B)** Efeito agudo do composto 01 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=4). Significativo para  $^*p \leq 0,05$  e  $^{***}p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

A figura 19 B representa o efeito desta chalcona derivada do 3,4-metilenodioxibenzaldeído, a qual apresenta um grupamento benzodioxol no anel B e não apresenta substituintes no anel A, na curva de tolerância à glicose. O composto foi administrado pela via oral, em uma dosagem de 10 mg/kg de peso corporal. Como se observa no gráfico, não houve diminuição significativa da glicemia em nenhum dos tempos estudados quando comparado ao controle hiperglicêmico ou controle hiperglicêmico com veículo.

#### 5.4.2.2 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(2'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 02) na curva de tolerância à glicose



(A)

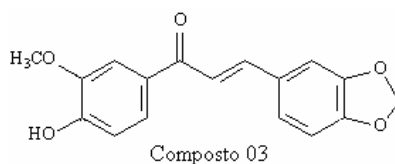


(B)

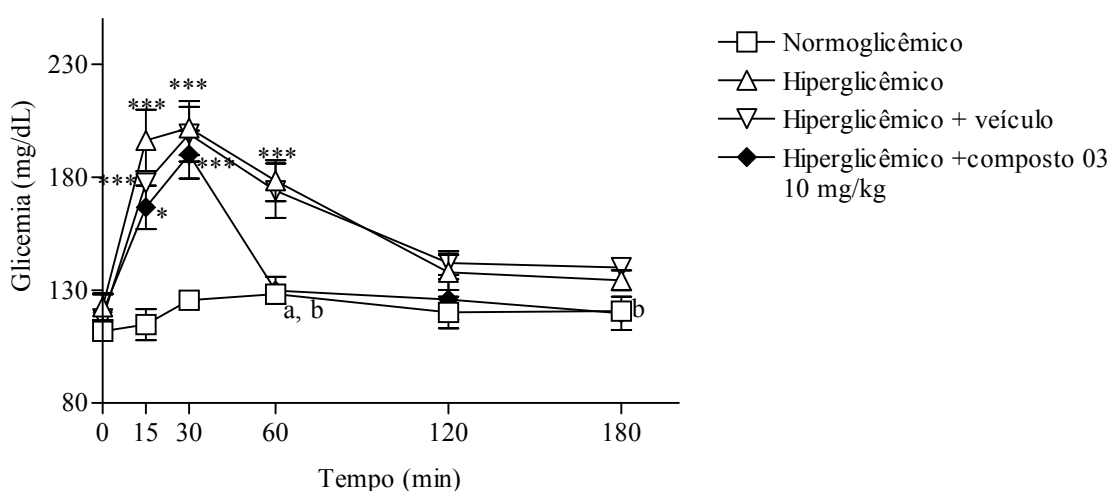
**Figura 20.** A) Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(2'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 02). B) Efeito agudo do composto 02 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=4). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

O resultado do experimento mostrado na figura 20 B teve como objetivo estudar o efeito do substituinte hidróxi (OH) no anel A (posição 2') desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, quando administrado via oral (10 mg/kg de peso corporal) na curva de tolerância à glicose. Como se observa no gráfico, não houve diminuição significativa da glicemia em nenhum dos tempos estudado quando comparado ao controle hiperglicêmico ou controle hiperglicêmico com veículo.

### 5.4.2.3 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-METOXI-4 -HIDROXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 03) na curva de tolerância à glicose



(A)

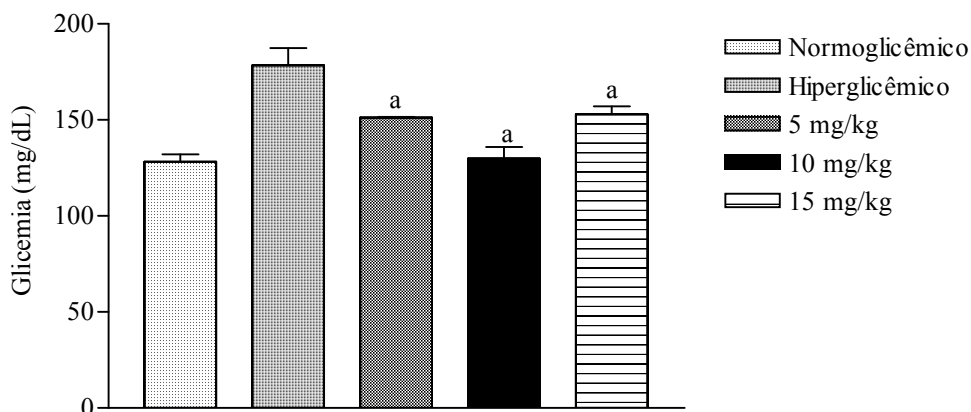


(B)

**Figura 21.** A) Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-METÓXI-4-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 03). B) Efeito agudo do composto 03 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=8). Significativo para \* $p \leq 0,05$  ou \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para <sup>b</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

A figura 21 B demonstra o efeito desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, quando esta apresenta como substituintes no anel A os grupamentos metóxi e hidróxi (posição 3' e 4', respectivamente), na curva de tolerância à glicose. Este composto foi administrado via oral na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal. Como se observa no gráfico, houve uma diminuição significativa da glicemia em 60 minutos, quando comparado ao controle hiperglicêmico (27,2%) e ao controle hiperglicêmico com veículo (25,4%). É importante notar que neste período o efeito hipoglicemiante diminuiu a glicemia a níveis basais e manteve-se até o final do período estudado.

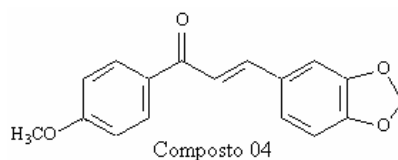
#### 5.4.2.4 Curva de dose-resposta do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-METÓXI-4 -HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 03) na glicemia



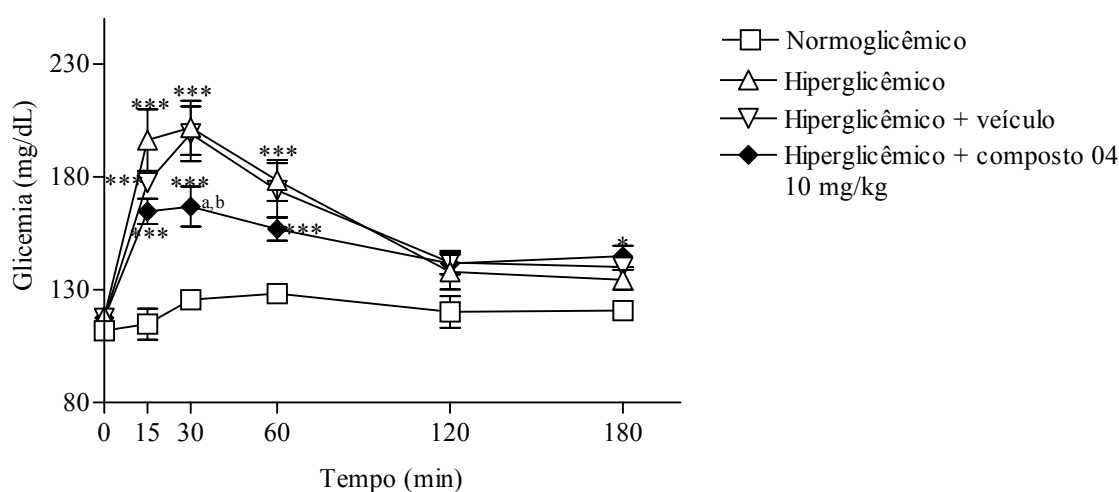
**Figura 22.** Curva de dose-resposta do composto 03 na glicemia após 1 hora de tratamento. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=6). Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico.

A figura 22 demonstra a curva de dose-resposta do composto 03 na curva de tolerância à glicose em 1 hora. Foram administradas doses de 5, 10 e 15 mg/kg, via oral. Como pode-se observar no gráfico, as três doses diminuíram significativamente a glicemia em relação ao controle hiperglicêmico. A melhor resposta hipoglicemiante foi observada com 10 mg/kg, em torno de 27 %. Com relação ao controle normal, o composto 03 inibiu o aumento da glicemia em 99% com a dosagem de 10 mg/kg e em torno de 82% com as dosagens de 5 e 15 mg/kg.

#### 5.4.2.5 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 04) na curva de tolerância à glicose



(A)

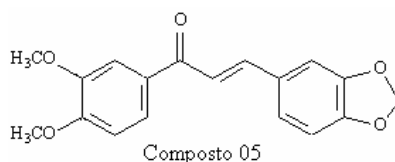


(B)

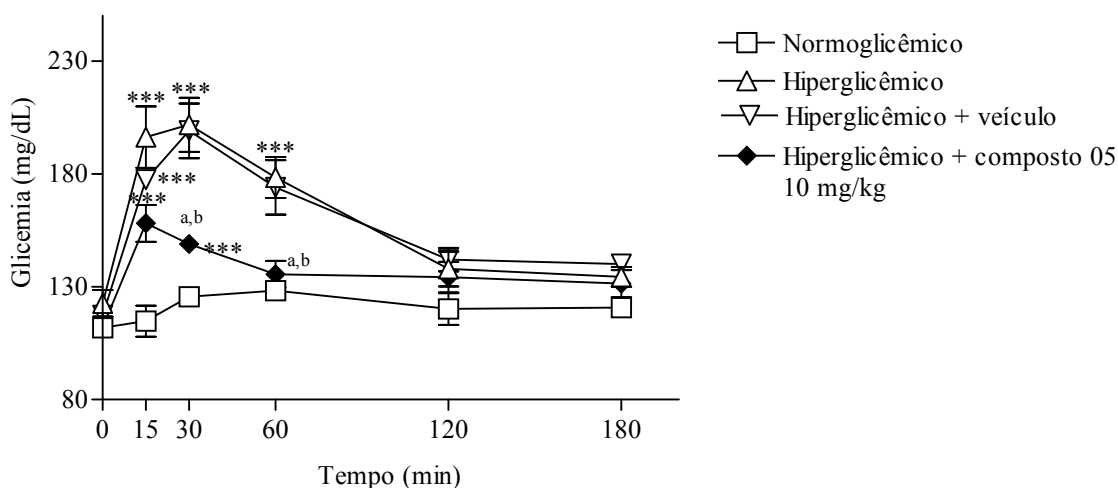
**Figura 23.** A) Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 04). B) Efeito agudo do composto 04 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=9). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^a p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^b p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

Na figura 23 B observa-se o efeito agudo da administração oral de 10 mg/kg de peso corporal desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, quando esta apresenta como substituinte o grupamento metóxi na posição 4' do anel A (composto 04) na curva de tolerância à glicose. Como se observa no gráfico, o grupamento metóxi nesta posição acarreta redução significativa da glicemia, quando comparado ao controle hiperglicêmico (17,6%) e ao controle hiperglicêmico com veículo (16,6%). Como pode ser observado, este grupamento na posição 4' afeta a glicemia em função do tempo, uma vez que teve um efeito hipoglicemiante em 30 minutos.

#### 5.4.2.6 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 05) na curva de tolerância à glicose



(A)



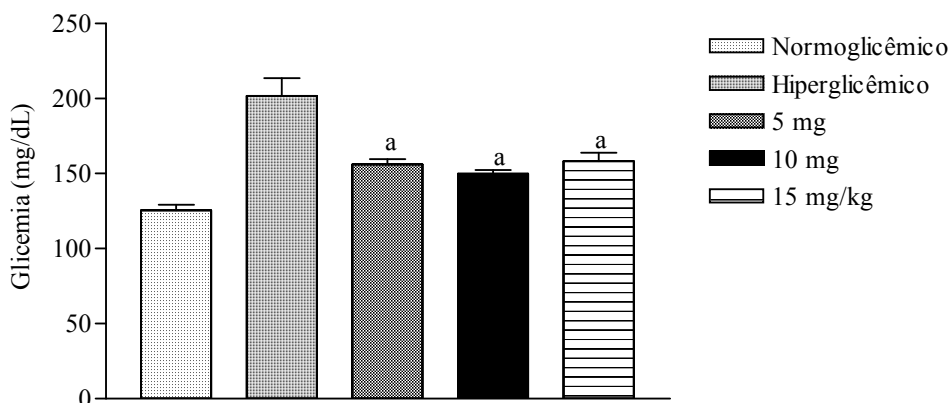
(B)

**Figura 24** **A)** Estrutura química do (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 05). **B)** Efeito agudo do composto 05 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=8). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^a p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^b p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

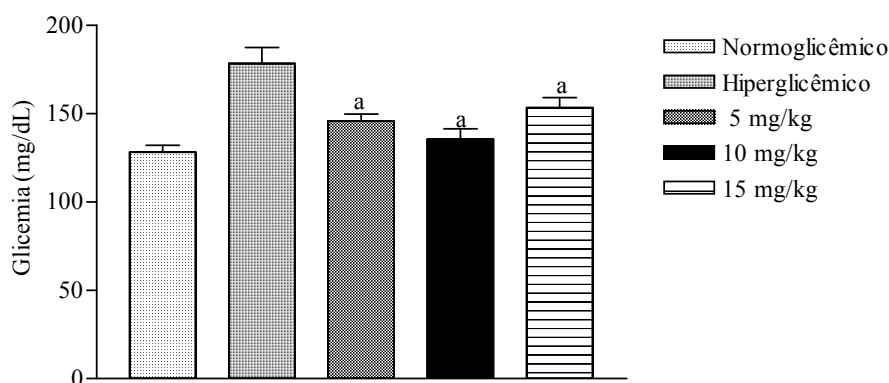
A figura 24 B demonstra o efeito dos substituintes metóxi nas posições 3' e 4' do anel A desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído na curva de tolerância à glicose, quando administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal, via oral. No tempo de 30 minutos, houve redução significativa da glicemia, quando comparado ao controle hiperglicêmico (25,7%) e controle hiperglicêmico com veículo (24,7%). Em 60 minutos, o composto testado reduziu significativamente a glicemia de 24% e 22%, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo, respectivamente. Vale a pena salientar que este substituinte influenciou positivamente na ação hipoglicemiante, foi

rápido, reduziu o pico hiperglicêmico em torno de 25%, reverteu a glicemia aos valores basais aos 60 minutos e manteve neste nível glicêmico até as três horas estudadas.

#### 5.4.2.7 Curva de dose-resposta do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4'-DIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 05) na glicemia



(A)



(B)

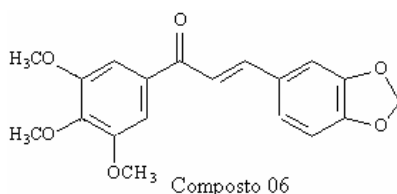
**Figura 25.** A) Curva de dose-resposta do composto 05 na glicemia após 30 minutos de tratamento. B). Curva de dose-resposta do composto 05 na glicemia após 1 hora de tratamento. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=8). Significativo para  $^a p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico.

A figura 25 A representa a curva de dose-resposta do composto 05 na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 30 minutos de tratamento. Foram administradas doses de 5, 10 e

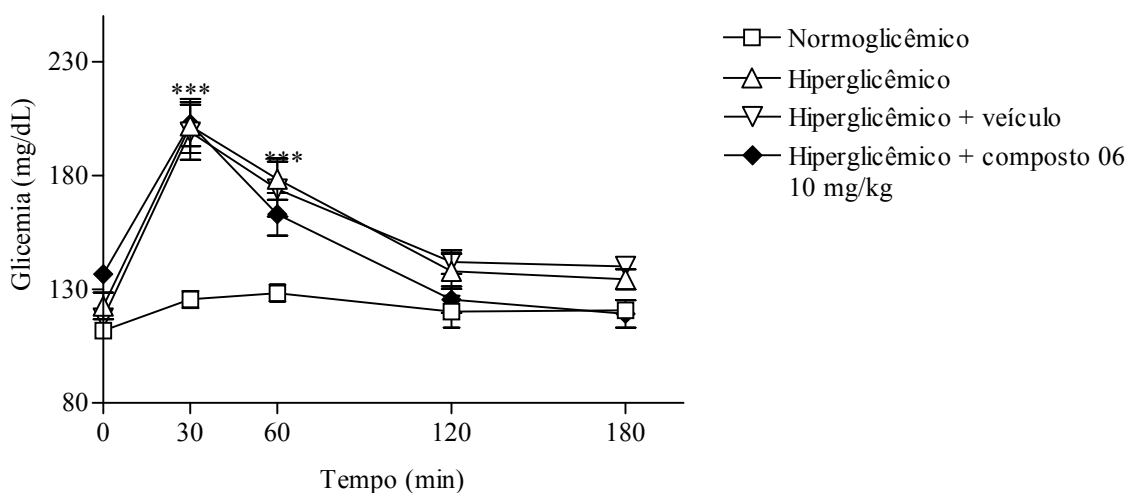


15 mg, via oral. Como se pode observar no gráfico, todas as dosagens testadas apresentaram redução significativa da glicemia, quando comparadas ao controle hiperglicêmico. A dose de melhor efeito foi a de 10 mg/kg, com redução de 25,7%, seguida da dose de 5 mg/kg (22,63%) e 15 mg/kg (21,54%), quando comparadas ao respectivo controle. A curva de dose-resposta do composto 05, administrado nas doses de 5, 10 e 15 mg/kg, na curva de tolerância à glicose em 1 hora está demonstrada na figura 25 B. As doses de 5 e 10 mg/kg reduziram significativamente a glicemia quando comparadas ao controle hiperglicêmico (18,22% e 24%, respectivamente). Já a dose de 15 mg/kg diminuiu significativamente a glicemia em relação ao controle hiperglicêmico em torno de 15,91%. Quando comparadas ao controle normal, as dosagens de 5 e 15 mg/kg impediram o aumento da glicemia após 30 minutos de tratamento em torno de 75% e a dose de 10 mg/kg, 81%. Após 1 hora de tratamento, a dose de 10 mg/kg foi a que mais se aproximou dos valores normais, inibindo em 95% o aumento da glicemia. Para as doses de 5 mg/kg e 15 mg/kg, esta inibição foi de 87% e 81%, respectivamente.

**5.4.2.8 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 06) na curva de tolerância à glicose**



(A)

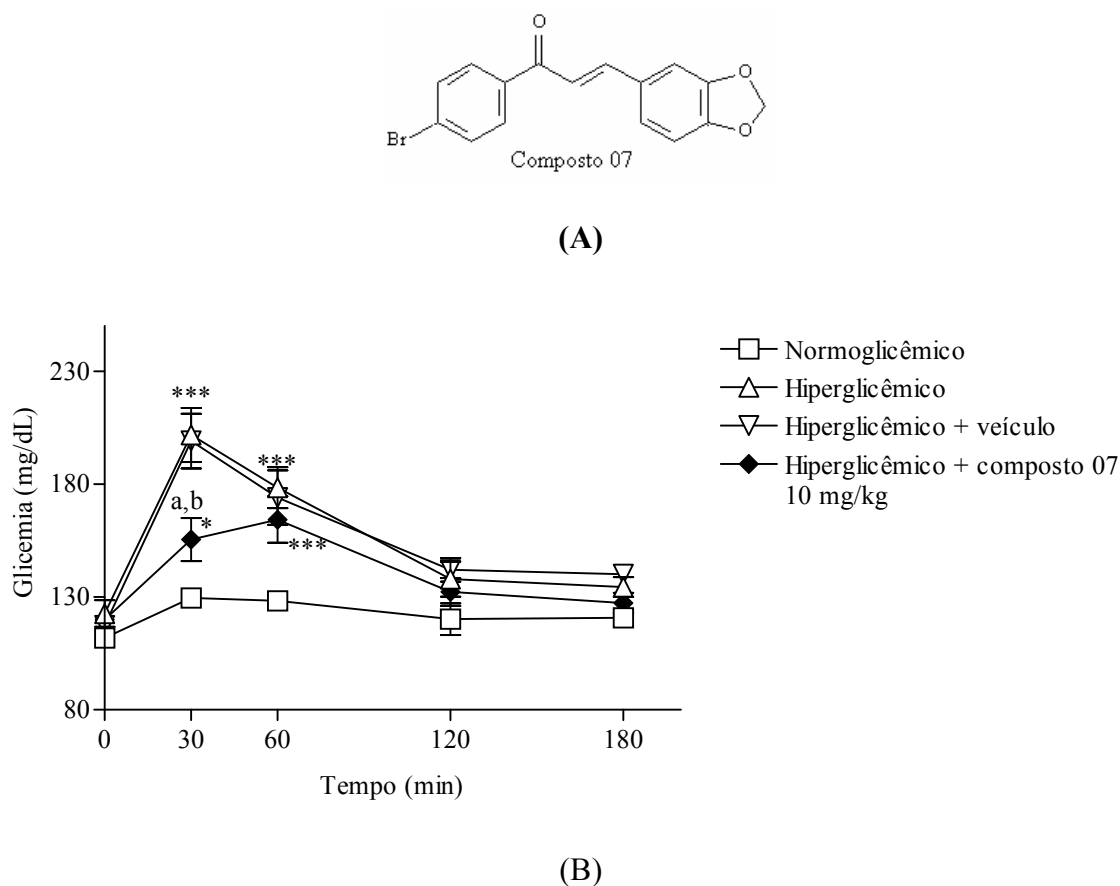


(B)

**Figura 26.** A) Estrutura química do (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 06). B) Efeito agudo do composto 06 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=4). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

O estudo do efeito agudo dos substituintes metóxi nas posições 3', 4' e 5' do anel A desta chalcona, na curva de tolerância à glicose, quando administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal, via oral, está demonstrado na figura 26B. Como se observa no gráfico, não houve redução significativa da glicemia nos tempos testados, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo.

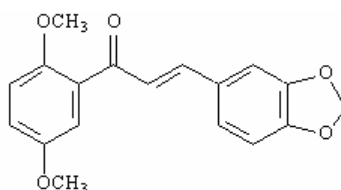
#### 5.4.2.9 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-BROMO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 07) na curva de tolerância à glicose



**Figura 27.** A) Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-BROMO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 07). B) Efeito agudo do composto 07 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=7). Significativo para \* $p \leq 0,05$  e \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para <sup>b</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

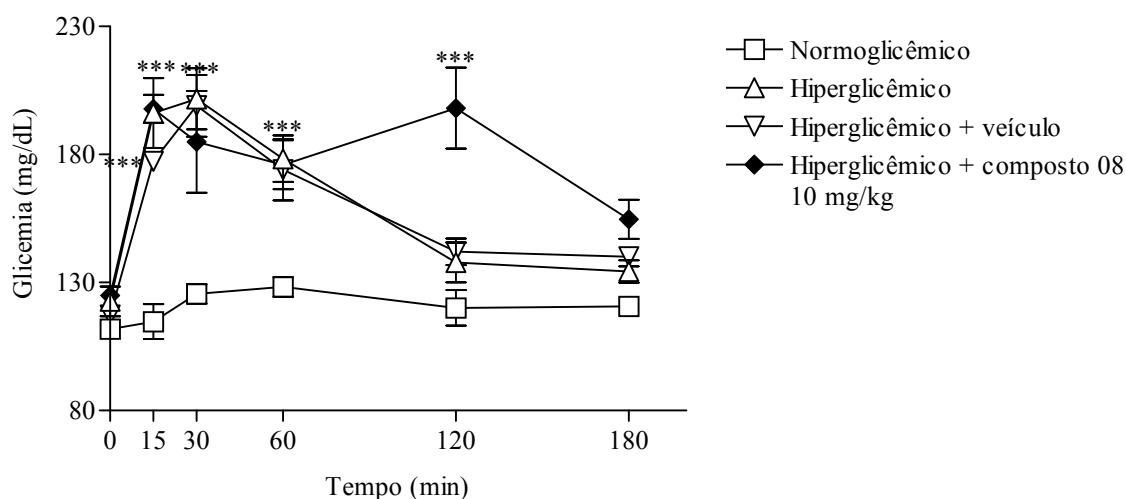
A figura 27 B mostra o efeito agudo da administração oral de 10 mg/kg da chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, a qual possui um átomo de bromo como substituinte na posição 4' do anel A (composto 07) na curva de tolerância à glicose. O composto 07 reduziu a glicemia significativamente (23%) em 30 minutos após tratamento, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico mais o veículo (22%).

**5.4.2.10 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(2',5'-DIMETOXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 08) na curva de tolerância à glicose**



Composto 08

(A)



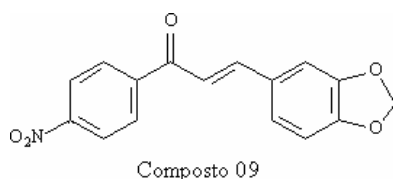
(B)

**Figura 28. A)** Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(2',5'-DIMETOXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 08). **B)** Efeito agudo do composto 08 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=7). Significativo para \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

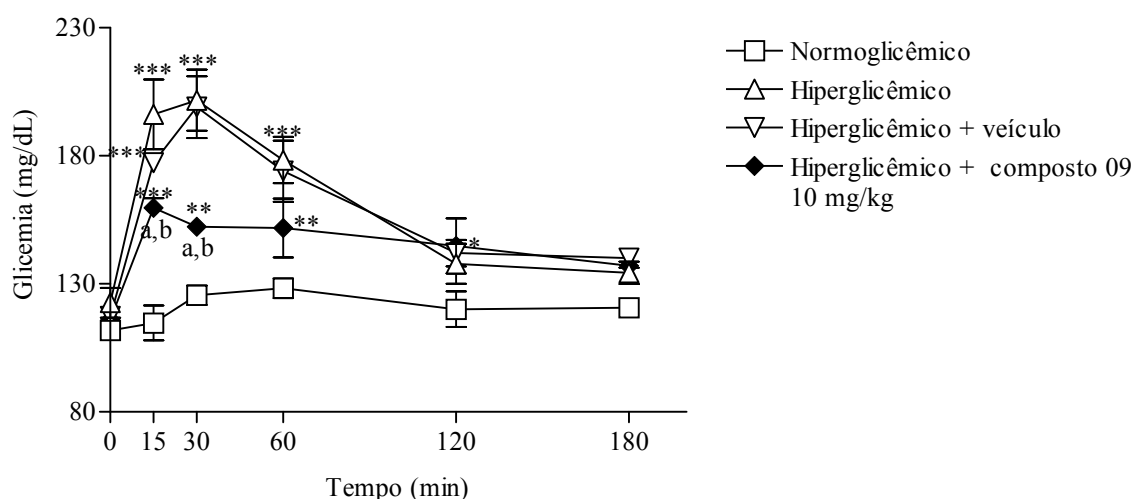
O estudo do efeito agudo dos substituintes metóxi nas posições 2' e 5' do anel A desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído na curva de tolerância à glicose, quando administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal, via oral, está demonstrado na figura 28 B. Como observa-se no gráfico, não houve redução significativa da glicemia nos tempos testados, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo.

Este composto com os substituintes nas posições 2' e 5' reforça a importância das posições 3' e/ou 4' observado para estes mesmos substituintes (composto 05) na ação hipoglicemiante.

#### 5.4.2.11 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 09) na curva de tolerância à glicose



(A)



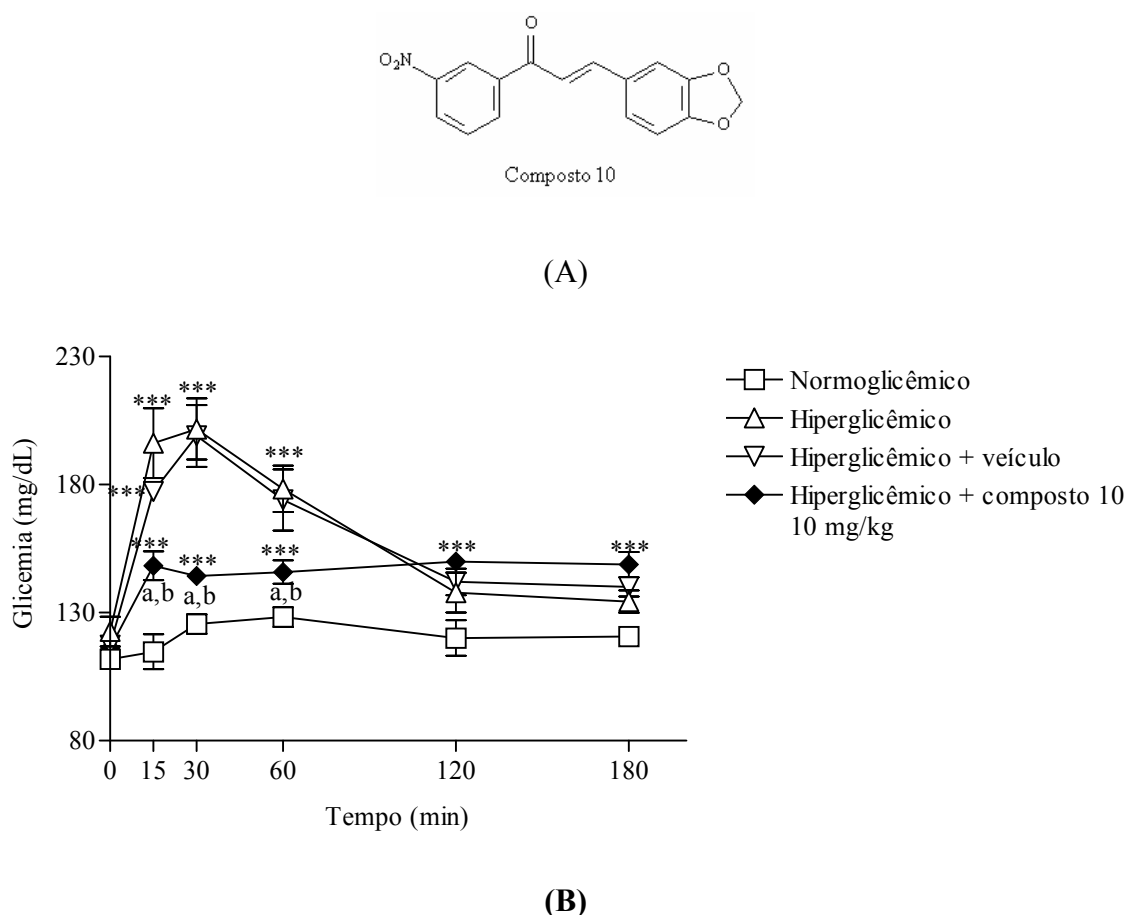
(B)

**Figura 29.** A) Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 09). B) Efeito agudo do composto 09 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata ( $n=7$ ). Significativo para  $^*p \leq 0,05$ ,  $^{**}p \leq 0,01$  e  $^{***}p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^ap \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^bp \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

A figura 29 B demonstra o efeito desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído, quando esta apresenta como substituinte do anel A o grupo nitro na posição 4', na curva de tolerância à glicose. Este composto foi administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal. Como observa-se no gráfico, houve redução significativa de 18,6% e 9,7 %

quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo já aos 15 minutos após o tratamento. Aos 30 minutos o composto também diminuiu a glicemia de maneira significativa em relação ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo (24,5 % e 235 %), respectivamente.

#### 5.4.2.12 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 10) na curva de tolerância à glicose



**Figura 30.** A) Estrutura química do composto (2E)-3-(1,3-BENZODIOXOL-5-IL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 10). B) Efeito agudo do composto 10 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=7). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^a p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^b p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

O efeito agudo do substituinte nitro na posição 3' do anel A desta chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (composto 10) na curva de tolerância à glicose, está

representado na figura 30 B. Este composto foi administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal, via oral. Como observa-se o gráfico, já em 15 minutos, houve redução significativa da glicemia quando se compara estes valores ao controle hiperglicêmico (24,4%) e ao controle hiperglicêmico com veículo (16,2%), sendo que esta redução permaneceu aos 30 minutos (28,5% e 27,5%, respectivamente, em relação aos controles anteriormente citados). Em 60 minutos, também ocorreu redução da glicemia em relação ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo (18,2% e 16,2%, respectivamente).

O 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (piperonal ou 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído) é um aldeído derivado do safrol, substância natural ativa utilizada como matéria prima de novos fármacos, como análogos de agentes antiinflamatórios não esteroidais, protótipos de fármacos anti-trombóticos (os quais agem diminuindo a agregação plaquetária) e analgésicos (BARREIRO; FRAGA; DE ARAÚJO JR, 2001; BARREIRO, 2001). Com relação às chalconas derivadas do piperonal, a presença ou ausência deste substituinte na molécula pode determinar a atividade biológica. Por exemplo, Batovska et al. (2006) verificaram que a introdução do grupamento 3,4-metileno-dióxido no anel B de chalconas não hidroxiladas tornava este composto inativo contra *Candida albicans*. Além disso, Satyanarayana et al. (2003) demonstraram que chalconas com o grupamento piperonal localizados no anel B foram capazes de diminuir a glicemia em ratos diabéticos induzidos com estreptozotocina (STZ), e também em ratos hiperglicêmicos, sendo que a eficácia destes compostos variou conforme os diferentes substituintes no anel A.

No presente estudo observou-se que somente a presença do substituinte 3,4-metilenodióxi-benzaldeído no anel B (figura 19 B) não confere às chalconas atividade hipoglicemiante. Por outro lado, a presença do substituinte nitro nesta estrutura conferiu à molécula uma atividade biológica. Estes resultados estão igualmente de acordo com Satyanarayana et al. (2003) com relação à atividade biológica, devido à presença de substituintes no anel A.

Observando-se os resultados encontrados para estas chalconas, é importante salientar que todos os compostos com potencial atividade hipoglicemiante apresentam substituições nas posições 3' e/ou 4' (compostos 03, 04, 05, 07 e 10), sendo que os compostos com substituições em posições diferentes não demonstraram este efeito (compostos 02, 06 e 08).

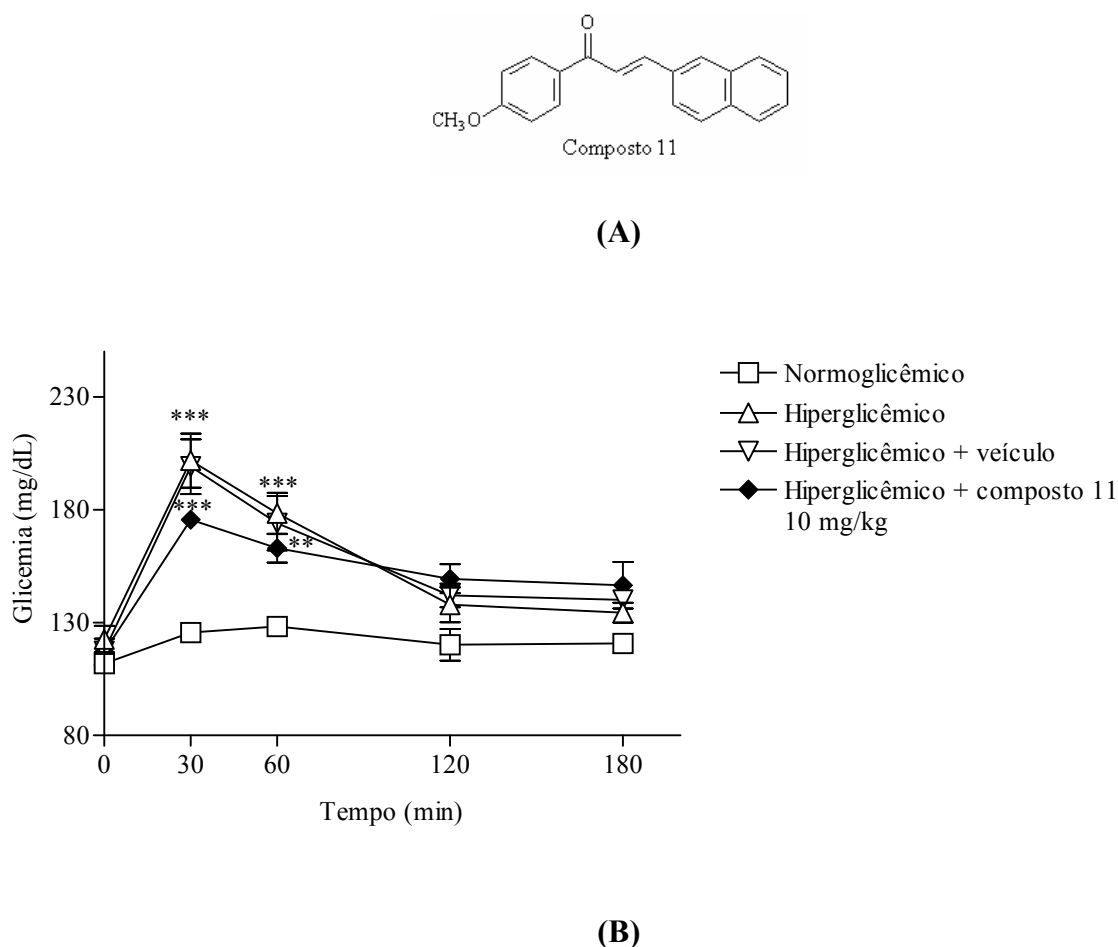
Chalconas com substituintes metóxi nas posições 3', 4' e 5' no anel A são potenciais agentes anticarcinogênicos, já que esta estrutura é característica de muitos agentes de ligação à tubulina, como a colchicina (LAWRENCE et al., 2006). Entretanto, com relação ao composto 06, a característica estrutural devido à distribuição dos substituintes nas posições 3', 4' e 5' parece ter provocado um impedimento estérico na obtenção da hipoglicemia, quando comparado à eficácia do composto 05 como agente hipoglicemiante.

Com relação aos substituintes, verifica-se que tanto os doadores de elétrons (metóxi e hidróxi) quanto os retiradores de elétrons (nitro e bromo), quando localizados nas posições 3' e/ou 4', demonstraram potencial atividade hipoglicemiante. Disto, pode-se pensar que, além da natureza do substituinte, o posicionamento destes é determinante para a atividade hipoglicemiante de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído. Ainda que a estrutura das chalconas estudadas seja diferente das utilizadas neste trabalho, Kamei et al. (2003) mostraram que o grupo nitro no anel B foi fundamental para conferir àquela molécula, uma relevante atividade biológica capaz de estimular a captação de glicose, bem como potencializar a ação da insulina na captação de glicose em adipócitos.



### **5.4.3 CHALCONAS DERIVADAS DO 2-NAFTALDEÍDO**

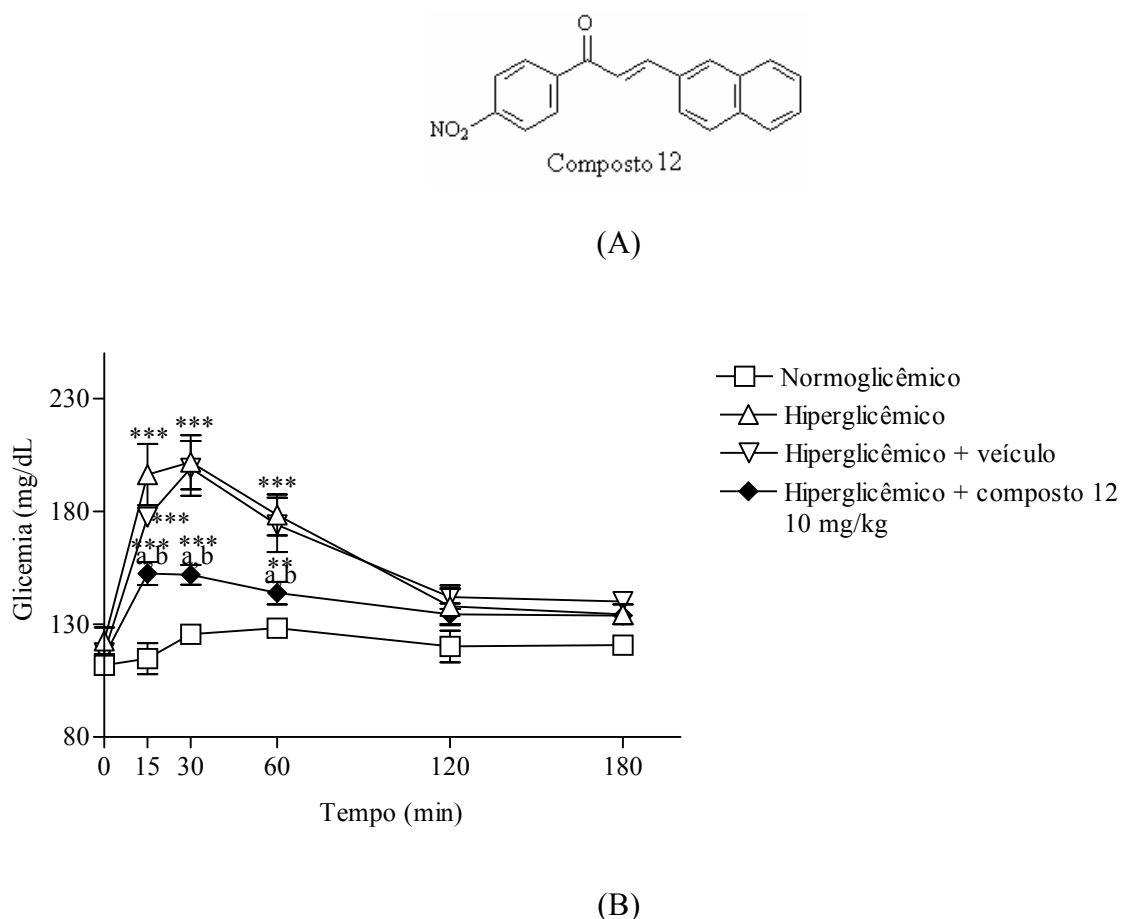
### 5.4.3.1 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 11) na curva de tolerância à glicose



**Figura 31.** A) Estrutura química (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-METÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 11). B) Efeito agudo do composto 11 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=4). Significativo para \*\*  $p \leq 0,01$  ou \*\*\*  $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

Na figura 31 B observa-se o efeito agudo da administração oral de 10 mg/kg de peso corporal do 2-naftaldeído, quando este apresenta como substituinte um único grupamento metóxi na posição 4' do anel A (composto 11) na curva de tolerância à glicose. No gráfico, observa-se que o perfil glicêmico deste composto não demonstrou redução significativa, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo.

### 5.4.3.2 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 12) na curva de tolerância à glicose

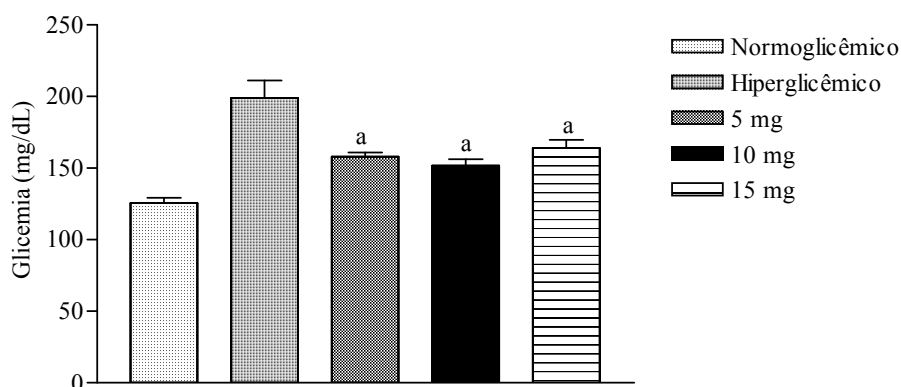


**Figura 32.** A) Estrutura química (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 12). B) Efeito agudo do composto 12 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=8). Significativo para  $**p \leq 0,01$  ou  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^ap \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^bp \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

O efeito agudo do substituinte nitro na posição 4' do anel A desta chalcona derivada do 2-naftaldeído (composto 12), administrada via oral na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal na curva de tolerância à glicose, está representado na figura 32 B. Em 15 minutos, houve redução significativa da glicemia quando se compara estes valores ao controle hiperglicêmico (22,3%) e ao controle hiperglicêmico com veículo (14%), sendo que esta redução permaneceu em 30 minutos (25% e 24%, respectivamente em relação aos controles citados). Em 60 minutos, também ocorreu redução da glicemia em relação ao controle

hiperglicêmico e hiperglicêmico com veículo (19,4% e 17,4%, respectivamente). A presença do grupamento nitro caracterizou um efeito rápido e duradouro, sendo efetivo durante todo o período estudado.

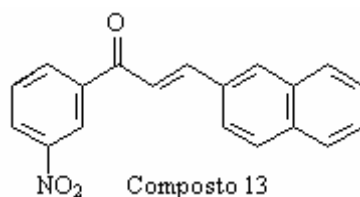
#### 5.4.3.3 Curva de dose-resposta do composto (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(4'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 12) na glicemia



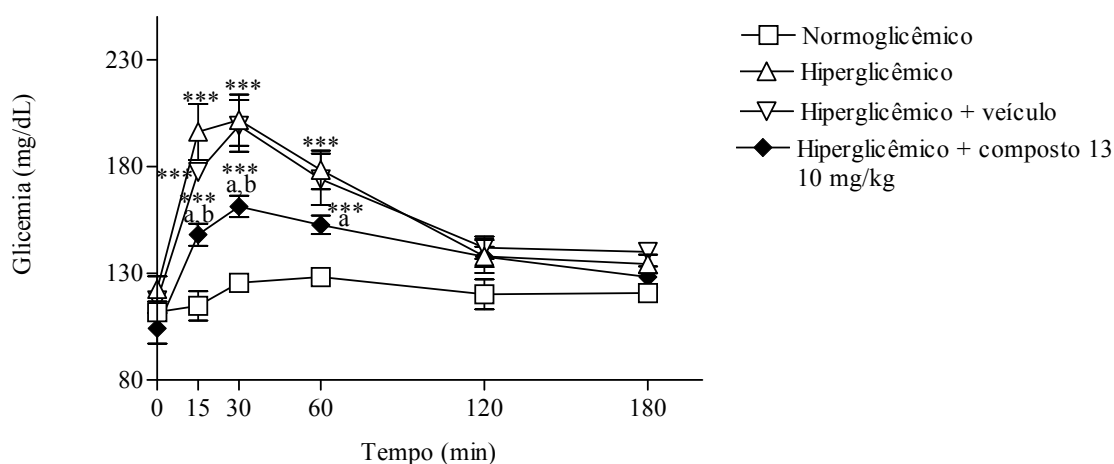
**Figura 33.** Curva de dose-resposta do composto 12 na glicemia após 30 minutos de tratamento. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=8). Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico.

O efeito da administração oral do composto 12 nas doses de 5, 10 e 15 mg/kg na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 30 minutos de tratamento está representado na figura 33. O tempo de 30 minutos foi escolhido devido à melhor eficácia do composto na curva de tolerância à glicose neste período (figura 32). Observando-se o gráfico acima, todas as dosagens reduziram significativamente a glicemia, quando comparadas ao controle hiperglicêmico (21,68 %, 25,13% e 18,62% para as doses de 5, 10 e 15 mg/kg, respectivamente). Este experimento reforça que a dose de 10 mg/kg é uma dose intermediária adequada aos estudos de efeito agudo neste modelo experimental. Com relação ao controle normal, a dose de 10 mg/kg foi a que mais se aproximou dos níveis basais, inibindo o aumento da glicemia em 80%, seguido da dose de 5 mg/kg (74%) e 15 mg/kg (70%).

#### 5.4.3.4 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 13) na curva de tolerância à glicose



(A)



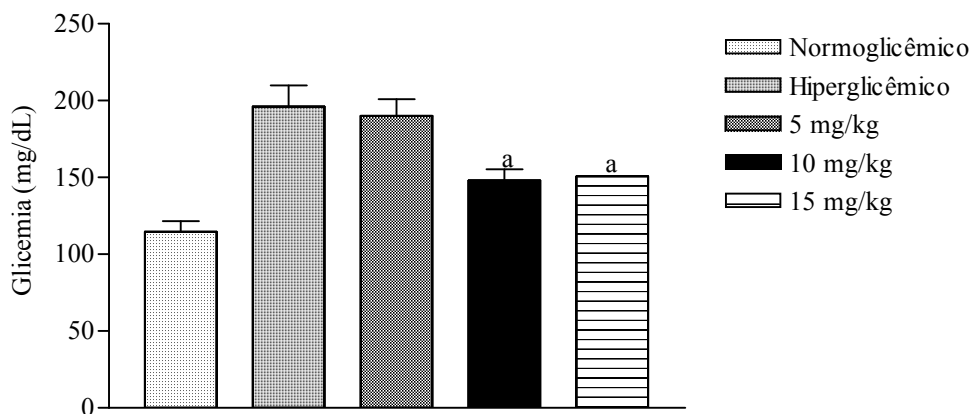
(B)

**Figura 34.** A) Estrutura química (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 13). B) Efeito agudo do composto 13 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=7). Significativo para  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^a p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^b p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

Na figura 34 B, observa-se o efeito agudo da chalcona derivada do 2-naftaldeído com substituinte nitro na posição 3' do anel A (composto 13), administrada via oral na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal na curva de tolerância à glicose. Em 15 minutos, houve redução significativa da glicemia, quando se compara estes valores ao controle hiperglicêmico (24,5%) e ao controle hiperglicêmico com veículo (16,4%); também, em 30 minutos houve redução da glicemia quando comparada aos controles anteriormente citados (25% e 24%, respectivamente). Já em 60 minutos, houve redução significativa de 14,6%, quando comparada ao controle hiperglicêmico. Como é observado nesta figura, a alteração do grupo nitro da posição 4' para 3' do anel A nesta chalcona otimizou o efeito hipoglicemiante, o que

reforça a referência de que, além do grupo químico, também é importante a posição do substituinte na molécula.

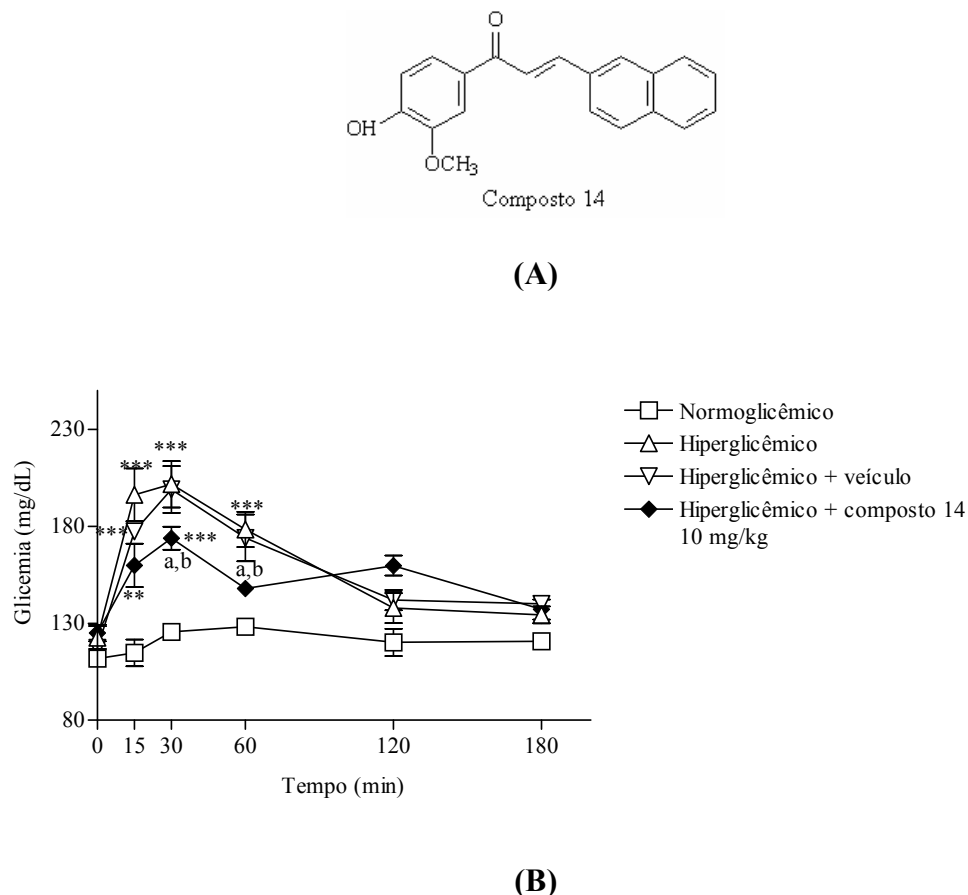
#### 5.4.3.5 Curva de dose-resposta do composto 2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-NITRO-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 13) na glicemia



**Figura 35.** Curva de dose-resposta do composto 13 na glicemia após 15 minutos de tratamento. Os resultados são a média ± E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=6). Significativo para <sup>a</sup>p≤0,05 em relação ao controle hiperglicêmico.

Os resultados apresentados no gráfico da figura 35 demonstram o efeito de diferentes doses (5, 10 e 15 mg/kg) do composto 10 na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 15 minutos de tratamento via oral. O tempo de 15 minutos foi escolhido devido à melhor eficácia do composto na curva de tolerância à glicose neste período (figura 34 B). No gráfico observa-se que as doses de 10 e 15 mg/kg diminuíram significativamente a glicemia, quando comparados ao controle hiperglicêmico (24,48 % e 23,14 %, respectivamente), e também apresentando diferença significativa com relação à dose de 5 mg/kg, apontando uma especificidade de ação. Quando comparadas ao controle normal, as doses de 10 e 15 mg/kg inibiram o aumento da glicemia em torno de 71% e 69%, respectivamente.

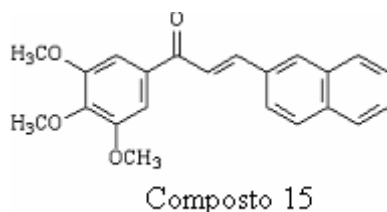
### 5.4.3.6 Efeito agudo da administração oral do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-METÓXI-4'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 14) na curva de tolerância à glicose



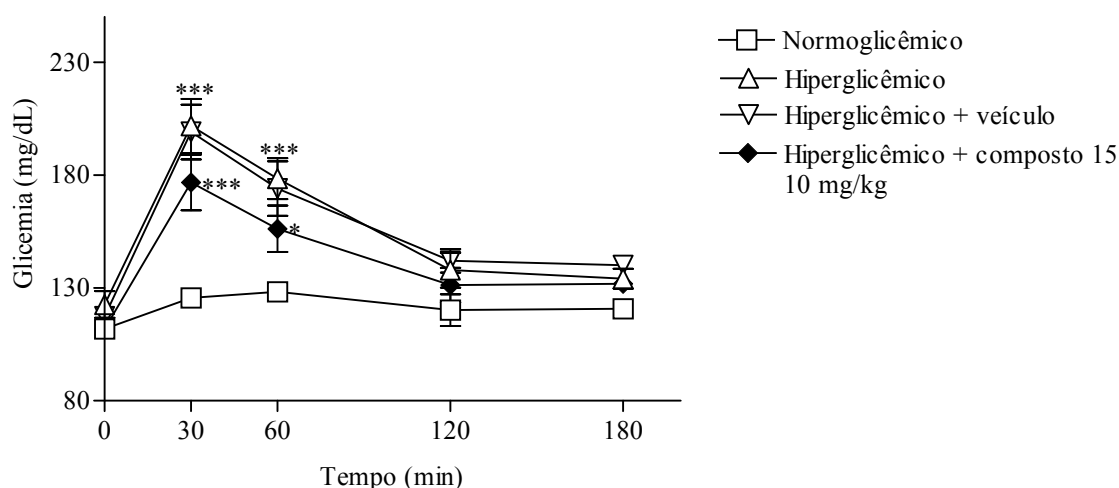
**Figura 36. A)** Estrutura química (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3'-METÓXI-4'-HIDRÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 14). **B)** Efeito agudo do composto 14 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=7). Significativo para  $^{**}p \leq 0,01$  e  $^{***}p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^ap \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico. Significativo para  $^bp \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico + veículo.

A figura 36 B representa o efeito dos substituintes metóxi e hidróxi, quando inseridos nas posições 3' e 4' do anel A desta chalcona derivada do naftaldeído na curva de tolerância à glicose. Este composto foi administrado na dosagem de 10 mg/kg de peso corporal, via oral. Como se observa no gráfico, o composto reduziu significativamente a glicemia nos tempos 30 e 60 minutos, quando comparado ao controle hiperglicêmico (13,8% e 17,09 % respectivamente), e ao controle hiperglicêmico com veículo (12,62% e 15,01%, respectivamente).

**5.4.3.7 Efeito agudo da administração oral do composto (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 15) na curva de tolerância à glicose**



(A)



(B)

**Figura 37. A)** Estrutura química do (2E)-3-(2-NAFTALENIL)-1-(3',4',5'-TRIMETÓXI-FENIL)-2-PROPEN-1-ONA (composto 15). **B)** Efeito agudo do composto 15 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=4). Significativo para \* $p \leq 0,05$  ou \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

A figura 37 B representa o efeito agudo da administração oral de 10 mg/kg de peso corporal da chalcona derivada do 2-naftaldeído, a qual possui como substituintes grupamentos metóxi nas posições 3',4' e 5' do anel A (composto 15) na curva de tolerância à glicose. Como observa-se no gráfico, não houve redução significativa da glicemia nos tempos testados, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo.

O 2-naftaldeído foi identificado como componente volátil dos rizomas da planta *Dioscorea japonica* (MIYAZAWA; SHIMAMURA; KAMEOKA, 1997), e como um dos



constituintes das ostras (CHUNG; YUNG; KIM, 2001). Várias atividades biológicas foram descritas para chalconas derivadas do 2-naftaldeído. Por exemplo, Gutteridge et al. (2006) demonstrou atividade contra *Plasmodium falsiparum in vitro*, sendo que análogos trimetoxilados foram mais efetivos que os mono-metóxi. Também foi constatada a capacidade desses derivados como potente anti-inflamatório (DESHPANDE et al, 1999), e também ação antiamastigota, demonstrando atividade variada dependente dos diferentes substituintes no anel A (CHIARADIA, 2006). É importante salientar que uma vantagem dos compostos heterocíclicos, é reduzir a lipofilicidade, já que a baixa solubilidade das chalconas em água pode ser um obstáculo para o futuro desenvolvimento de fármacos (GUTTERIDGE et al., 2006).

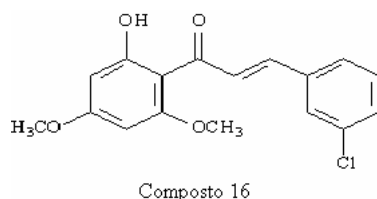
Com relação à atividade hipoglicemiante, neste estudo as chalconas apresentaram como substituintes o 2-naftaldeído no anel B e diferentes substituintes no anel A. Novamente, como observado para os derivados do piperonal, as chalconas derivadas do 2-naftaldeído com potencial atividade hipoglicemiante também possui substituintes nas posições 3'e/ou 4' (compostos 12, 13 e 14), com exceção do composto 11, que possui como substituinte o grupamento metóxi na posição 4'. Comparando o composto 11 com seu correspondente piperonal (composto 04), percebe-se que a introdução do grupamento 2-naftaldéído, neste caso, inativou o composto, sugerindo, portanto que, além dos substituintes no anel A, a substituição no anel B também contribuiu para a atividade hipoglicemiante.

Da mesma maneira que ocorreu com o correspondente piperonal (composto 06), o composto 15, com substituintes metóxi nas posições 3',4',5' foi inativo, sugerindo-se, novamente, que poderia estar ocorrendo impedimento estérico, não conferindo a este composto o potencial efeito hipoglicemiante.

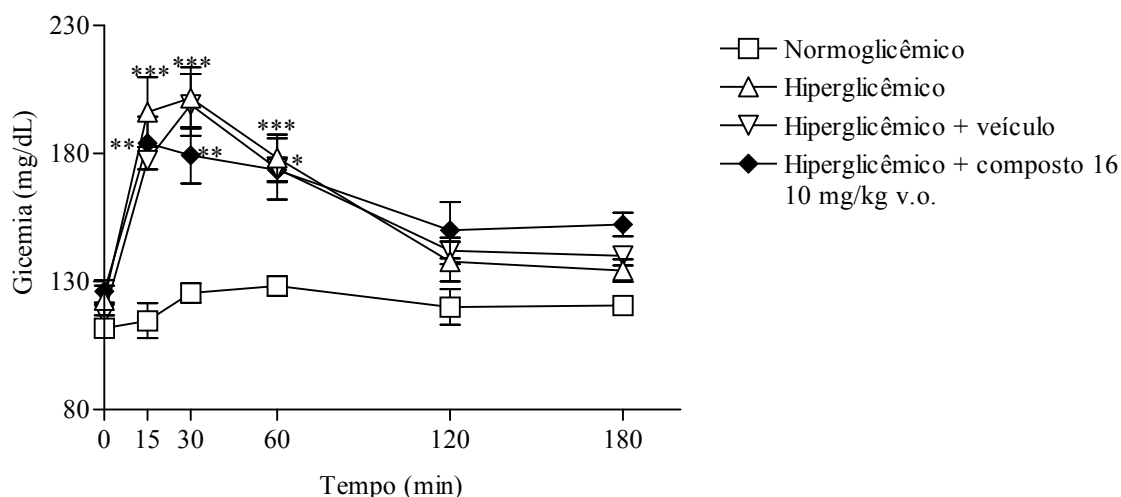
Com relação aos substituintes, verifica-se novamente que, tanto os doadores de elétrons (metóxi e hidróxi), quanto os retiradores de elétrons (nitro), quando localizados nas posições 3' e/ou 4', demonstraram potencial atividade hipoglicemiante. Entretanto, para esta série de compostos, quando há uma única substituição no anel A com grupamento metóxi (composto 11), não se observa eficácia, enquanto que a presença do grupamento nitro (compostos 12 e 13), o composto demonstra eficácia em 15, 30 e 60 minutos. Sugere-se, portanto, que para chalconas derivadas do 2-naftaldeído, além do posicionamento dos substituintes, a natureza destes é determinante para uma possível atividade hipoglicemiante, ao menos em derivados mono substituídos.

#### **5.4.4 CHALCONAS DERIVADAS DA XANTOXILINA (2-HIDRÓXI-4,6-DIMETÓXI-ACETOFENONA)**

#### 5.4.4.1 Efeito agudo da administração oral do (2E)-1-(2'-HIDRÓXI-4',6'-DIMETÓXIFENIL)-3-{3-CLOROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 16) na curva de tolerância à glicose



(A)

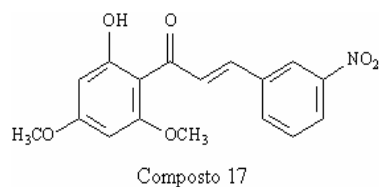


(B)

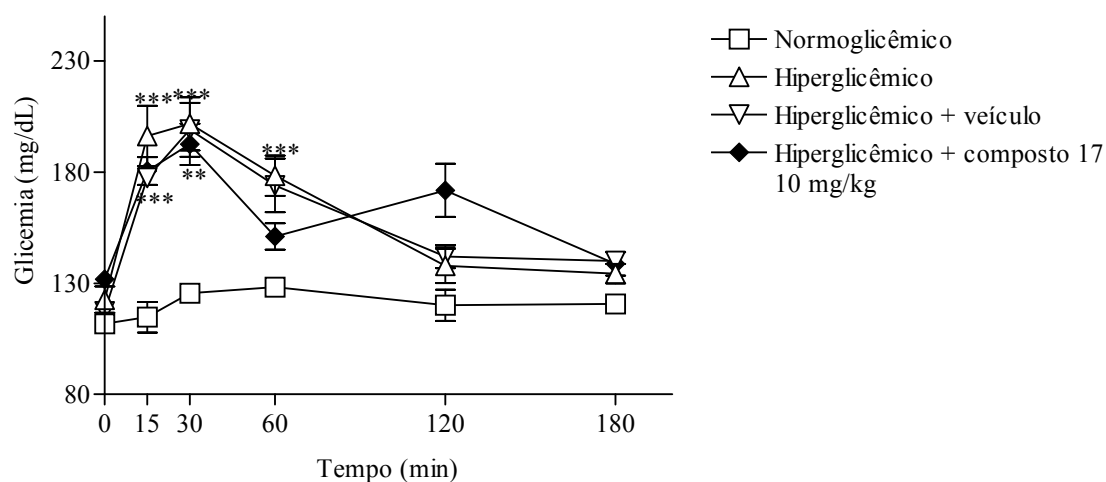
**Figura 38.** A) Estrutura química (2E)-1-(2'-HIDRÓXI-4',6'-DIMETÓXIFENIL)-3-{3-CLOROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 16). B) Efeito agudo do composto 16 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=5). Significativo para  $*p \leq 0,05$ ,  $**p \leq 0,01$  ou  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

Os resultados de experimentos realizados com o composto 16 estão representados na figura 38 B. Como é possível observar no gráfico, esta chalcona derivada da xantoxilina, a qual apresenta como substituinte um átomo de cloro na posição 3 do anel B, não alterou a curva de tolerância à glicose nos tempos característicos de pico hiperglicêmico (15, 30 e 60 minutos).

**5.4.4.2 Efeito agudo da administração oral do (2E)-1-(2'-HIDROXI-4',6'-DIMETOXIFENIL)-3-{3-NITROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 17) na curva de tolerância à glicose**



(A)



(B)

**Figura 39.** A) Estrutura química (2E)-1-(2'-HIDRÓXI-4',6'-DIMETÓXIFENIL)-3-{3-NITROFENIL}-2-PROPEN-1-ONA (composto 17). B). Efeito agudo do composto 17 na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=5). Significativo para  $**p \leq 0,01$  ou  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero.

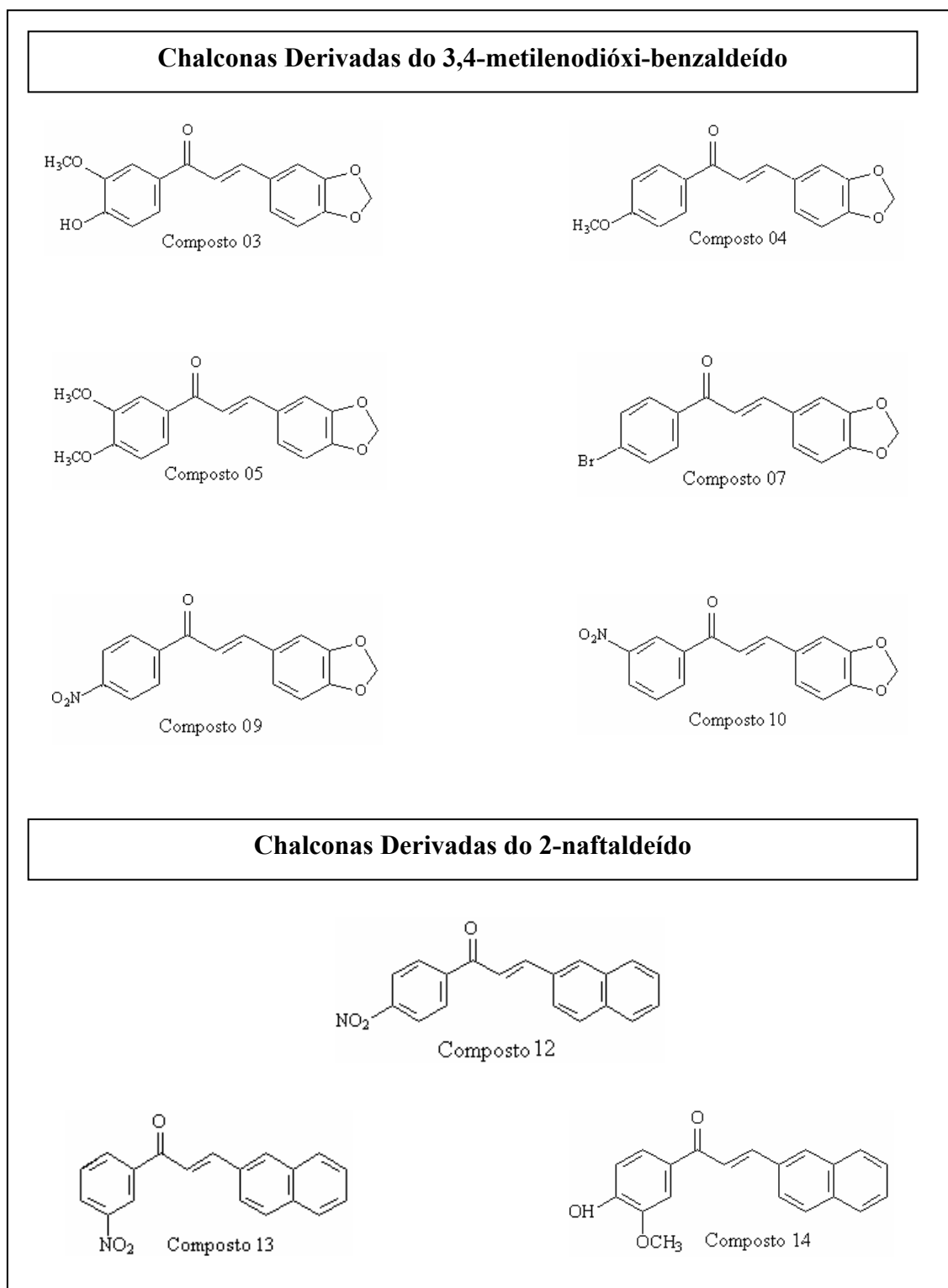
A figura 39 B mostra o efeito agudo da chalcona derivada da xantoxilina (2-hidróxi-4,6-dimetóxi-fenil), a qual possui como substituinte o grupamento nitro na posição 3 do anel B na curva de tolerância à glicose, quando administrada via oral em uma dosagem de 10 mg/kg de peso corporal. O perfil glicêmico deste composto não demonstrou redução significativa da glicemia, quando comparado ao controle hiperglicêmico e ao controle hiperglicêmico com veículo em nenhum dos tempos testados.

A xantoxilina (2-hidróxi-4,6-dimetóxi-acetofenona) pode ser obtida de diferentes plantas, como *Sebastiania schottiana* (CALIXTO et al., 1986), *Sapium sebiferum* (KOUNO et al., 1983) e *Euphorbia fidjiana* (CAMBIE et a., 1991). Esta acetofenona apresenta diversas atividades biológicas, como antiespasmódica (CALIXTO et al., 1986), bactericida (DE GODOY; MIGUEL; MOREIRA, 1996) e antioxidante (MATHIESEN; MALTERUD; SUND, 1997).

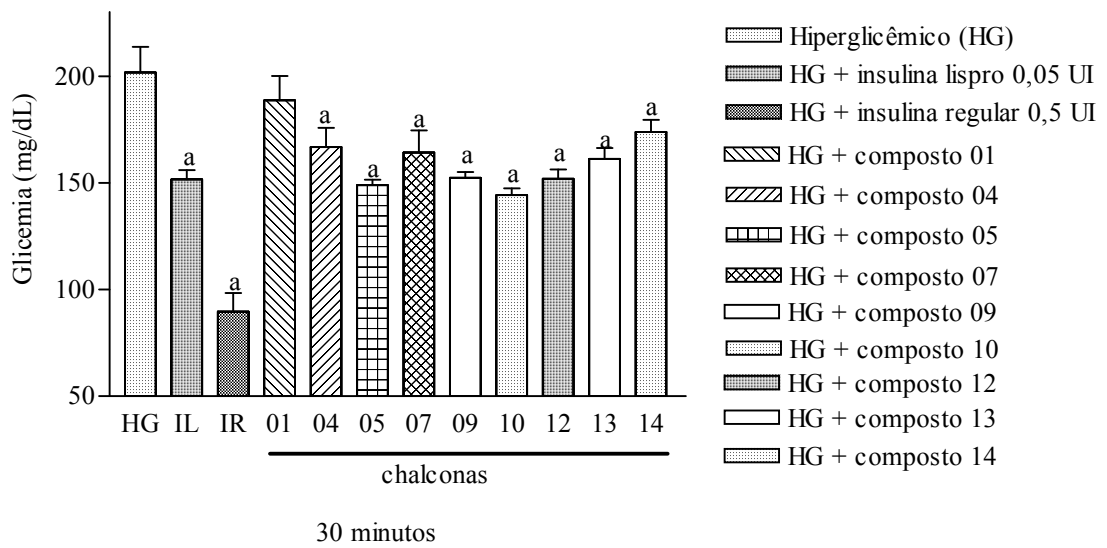
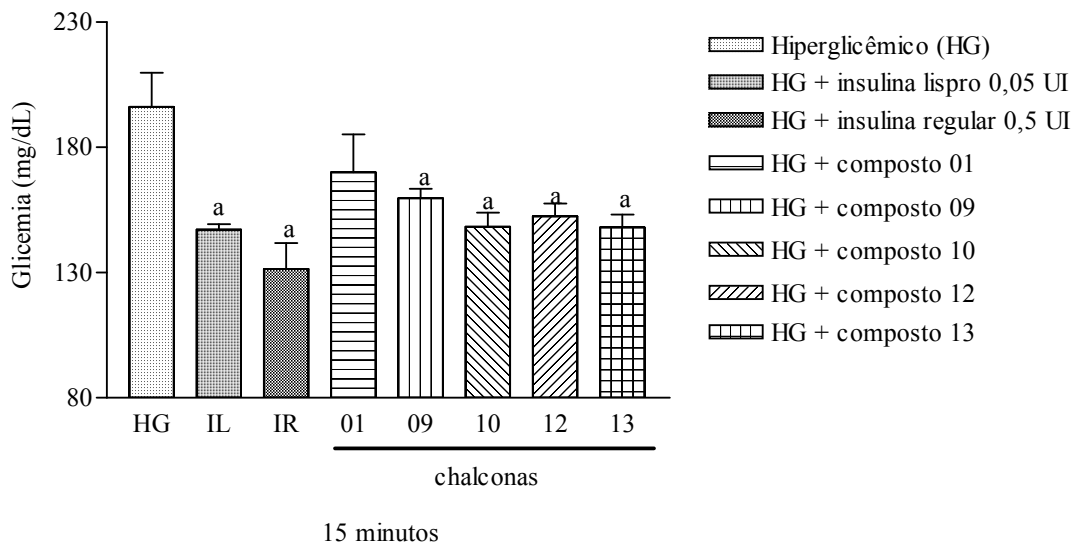
Em estudos recentes, foi verificado que chalconas derivadas da xantoxilina apresentaram potencial efeito anti-amastigota e antiinflamatório (CHIARADIA, 2006). É importante citar, também que algumas dessas chalconas derivadas da xantoxilina, como flavokavain A, B e C, foram capazes de inibir a atividade de diversas proteínas cinases, dentre elas a glicogênio sintase quinase-3 (GSK3) (FOLMER et al., 2006), exercendo, assim, ações insulino-miméticas. Entretanto, com relação à atividade hipoglicêmica, nenhum dos compostos testados demonstrou eficácia. Nas estruturas dos compostos 16 e 17, verifica-se que os substituintes distribuem-se nas posições 2',4' e 6' do anel A, sugerindo, assim, que esta conformação caracterize um impedimento estérico, semelhante aos compostos 06 e 15.

**5.4.5 EFEITO COMPARATIVO DE CHALCONAS  
DERIVADAS DO 3,4-METILENODIÓXI-  
BENZALDEÍDO E 2-NALFTADEÍDO; INSULINAS  
LISPRO E REGULAR E TOLBUTAMIDA NA  
GLICEMIA DE RATOS HIPERGLICÊMICOS  
EM DIFERENTES TEMPOS**

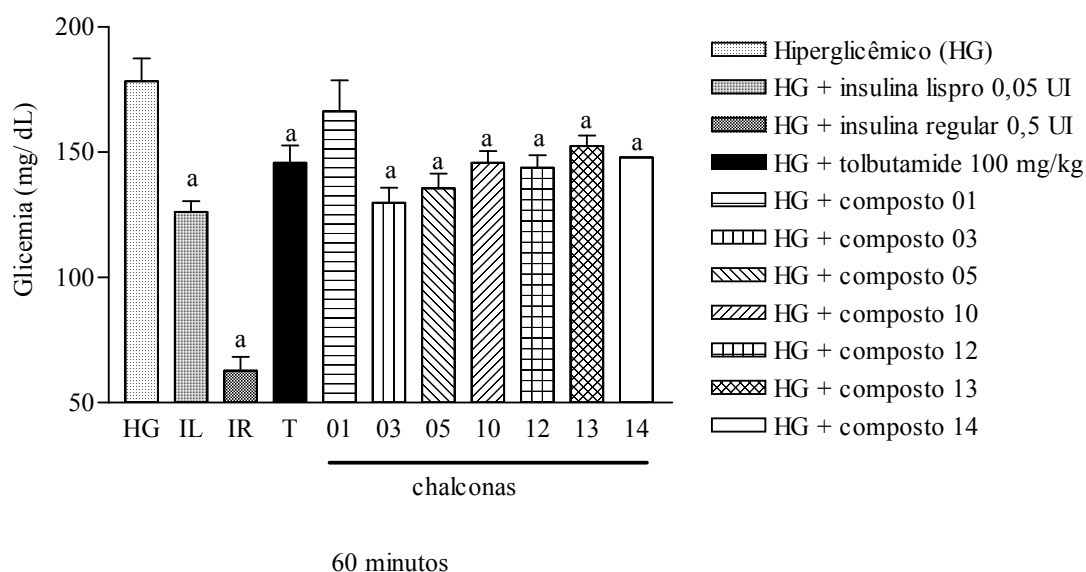
**5.4.5.1 Efeito comparativo das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído e 2-naftaldeído, insulina lispro, insulina regular e tolbutamida, na glicemia de ratos hiperglicêmicos.**



(A)







(D)

**Figura 40.** **A)** Chalconas com potencial atividade hipoglicemiante. **B)** Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 09 e 10) e do naftaldeído (compostos 12 e 13), insulina lispro e regular na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 15 minutos de tratamento **C)** Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 04, 05, 07, 09 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13 e 14), insulina lispro e regular na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 30 minutos de tratamento **D)** Efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 03, 05 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13 e 14), insulina lispro e regular e tolbutamida, na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 1h de tratamento via oral. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=8). Significativo <sup>a</sup>p $\leq$ 0,05 em relação ao controle hiperglicêmico.

O efeito comparativo das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 01, 09 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13), administrados na dosagem de 10 mg/kg, via oral; insulinas exógenas lispro (0,05 UI) e regular (0,5 UI) via intraperitoneal, na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 15 minutos de tratamento, está representado na figura 40 B. Como pode-se observar no gráfico, todos os compostos reduziram significativamente a glicemia quando comparados ao controle hiperglicêmico, sendo que a insulina lispro demonstrou aproximadamente 25% de redução na glicemia e a insulina regular 33% naquele tempo. O composto 01, chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (o único análogo desta série que não apresenta substituintes no anel A (figura 19 A)), não alterou de modo significativo a curva de tolerância à glicose. Maior eficácia foi observada em torno de 24,6% > 24,4% > 22,3% > 18,6% para os compostos 13, 10, 11 e 09, respectivamente, quando comparados ao controle hiperglicêmico. No entanto, os compostos 09 e 10 não

apresentaram diferença significativa quando comparados ao análogo 01. É importante destacar que, com exceção do composto 09, todos os compostos não diferiram significativamente com relação ao efeito hipoglicemiante da insulina lispro e regular, demonstrando, serem, portanto, tão efetivos quanto este medicamento, muito utilizado na terapia do diabetes. Dessa forma, estes compostos mostraram uma ação potencial e temporal semelhante à insulina. Estruturalmente, os compostos que apresentaram efeito hipoglicemiante aos 15 minutos, tanto os derivados do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (compostos 09 e 10) quanto os derivados do 2-naftaldeído (compostos 12 e 13), apresentam como substituinte o grupo nitro (retirador de elétrons) nas posições 3' ou 4' no anel A. Sugere-se, portanto, que além da importância do posicionamento dos substituintes no efeito hipoglicemiante destes compostos, o substituinte nitro influenciou na rapidez da resposta assemelhando-se muito à resposta da insulina lispro, o que pode estar associado a uma rápida absorção deste composto.

A figura 40 C apresenta o efeito comparativo de chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (composto 01, 04, 05, 07, 09 e 10) e do naftaldeído (compostos 12, 13 e 14), administradas na dosagem de 10 mg/kg, via oral; insulinas exógenas lispro (0,05 UI) e regular (0,5 UI) via intraperitoneal, na glicemia de ratos hiperglicêmicos após 30 minutos de tratamento. Como mostra o gráfico, todos os compostos reduziram significativamente a glicemia quando comparados ao controle hiperglicêmico, com exceção do composto 01, que não alterou a curva de tolerância à glicose. Os compostos derivados do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído 10, 05 e 09 demonstraram efeito hipoglicemiante de maneira significativa quando comparado ao composto 01 (23,34%, 21,02% e 19, 21%). De maneira geral, as chalconas de melhor eficácia (em ordem decrescente), quando comparados ao controle hiperglicêmico, são os compostos 10, 05, 12, 09 (sendo que estes compostos não se diferiram quanto ao efeito hipoglicemiante); 13, 07, 04 e 14. O composto 10, de melhor eficácia, também demonstrou redução na glicemia significativamente maior que a outros compostos testados (04, 13 e 14), quando comparados ao controle hiperglicêmico. É importante salientar que, com exceção do composto 14, todas as outras chalconas não demonstraram diferença significativa na redução da glicemia, quando comparados à insulina lispro, mostrando que estes compostos apresentam a mesma eficácia que o medicamento hipoglicemiante, com a vantagem de serem administrados por via oral. Estruturalmente, o composto de maior eficácia no período de 30 minutos, é uma chalcona derivada do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído que apresenta como substituinte o grupo nitro na posição 3' do anel A (composto 10). Mais uma vez, ressalta-se a

importância deste grupo e também o posicionamento no anel A para promoção do efeito hipoglicemiante. Entretanto, o correspondente naftaldeído (composto 13) apresentou eficácia significativamente menor; já com relação aos compostos 09 e 12 (apresentam grupo nitro na posição 4' do anel A), os quais são derivados do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído e 2-naftaldeído, respectivamente, observou-se reduções semelhantes na glicemia. Também é importante discutir que, quando se tem outro grupamento seqüestrador de elétrons como substituinte na posição 4' do anel A, como o composto 07, o qual apresenta um átomo de bromo nesta posição, a eficácia do composto em reduzir a glicemia é menor. Sugere-se, portanto, que, além dos substituintes e do posicionamento destes no anel A, substituições no anel B também podem influenciar na ação hipoglicemiante destes compostos. Com relação ao composto 05, este apresenta como substituintes grupamentos metóxi (doadores de elétrons) nas posições 3' e 4' do anel A e mostrou-se bastante efetivo em reduzir a glicemia, diferente de quando há somente um grupamento metóxi na posição 4' (composto 04), onde a eficácia do composto é menor. Entretanto, a chalcona derivada do 2-naftaldeído com substituintes metóxi e hidróxi nas posições 3' e 4' do anel A, respectivamente (composto 14), também demonstrou baixa eficácia. Sugere-se, portanto que, em se tratando de substituintes doadores de elétrons, também se observou que, além dos substituintes e do posicionamento destes no anel A, substituições no anel B também podem influenciar na ação hipoglicemiante destes compostos no período de 30 minutos.

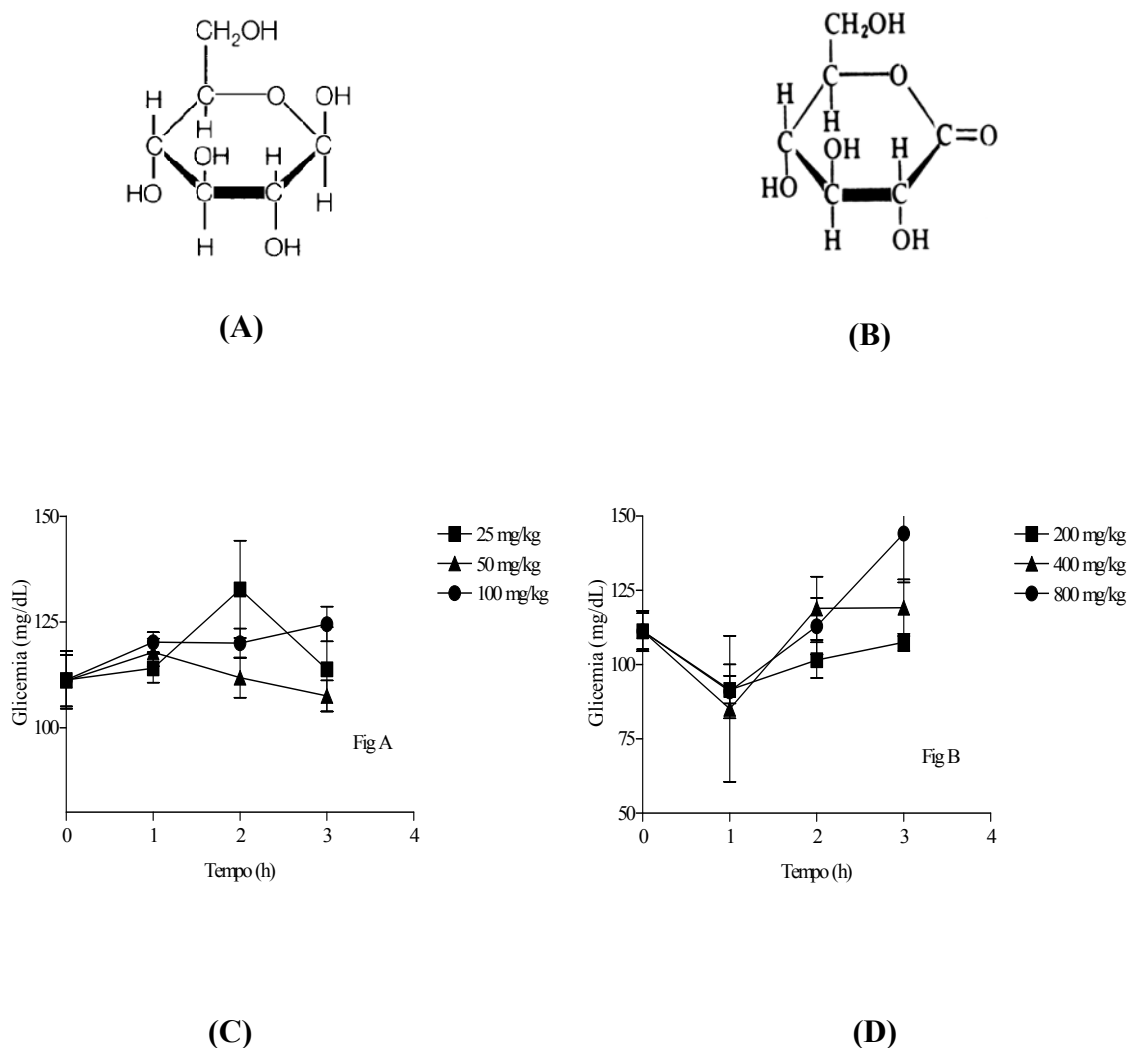
Para comparar a potência e eficiência na redução dos níveis séricos de glicose sob a ação das chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído (10 mg/kg) e 2-naftaldeído (10 mg/kg) administradas por via oral em ratos hiperglicêmicos após 1 hora de tratamento, foram utilizados medicamentos hipoglicemiantes, como as insulinas exógenas lispro (0,05 UI) e regular (0,5 UI) pela via intraperitoneal e a tolbutamida (100 mg/kg) pela via oral. Como mostra a figura 40 D, todos os compostos apresentaram redução significativa da glicemia, quando comparados ao controle hiperglicêmico, com exceção do composto 01 (figura 19). A insulina lispro demonstrou 30 % de redução na glicemia, insulina regular 65 %, tolbutamida 18 %. Os compostos apresentaram, em média, 20 % de redução da glicemia, sendo o composto 03 o mais efetivo, seguido do composto 05, quando comparados ao controle hiperglicêmico (27% e 24%, respectivamente) e ao composto 01 (22% e 19%, respectivamente). Entretanto, essas duas chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído não diferiram significativamente quanto ao efeito hipoglicemiante. Por outro lado, os compostos 03 e 05 demonstraram redução significativamente maior a outros

compostos testados (compostos 12, 13 e 14). É importante salientar, também, que os compostos 03 e 05 foram os únicos a proporcionar redução significativa da glicemia, muito semelhante aos medicamentos testados, tolbutamida e insulina lispro. Isto demonstra a importância dos substituintes no anel A e B das chalconas, que elevam a potência desses compostos após 1 hora de tratamento, ao nível dos medicamentos testados. O composto 10 apresentou eficácia semelhante à tolbutamida (18,2 %) e não apresentou diferença significativa ao composto 05, entretanto, não atingiu a potência dos compostos 03 e 05, já que a redução da glicemia foi significativamente menor quando comparado à insulina lispro. Comparativamente aos derivados do 2-naftaldeído, maior eficácia foi verificada com o composto 12 (19,4 %), seguido do composto 14 (17,9 %) e 13 (14,6 %). No entanto, estes compostos não diferiram quanto ao potencial hipoglicêmico e não apresentaram diferença significativa, quando comparados à tolbutamida. Um aspecto relevante é o fato de que as doses dos compostos administrados são 10 vezes menores (10 mg/kg) do que a da tolbutamida (100 mg/kg), demonstrando-se, assim, serem 10 vezes mais potente que o medicamento de referência. Dessa forma, esses compostos destacam-se como potenciais agentes hipoglicemiantes, sendo promissores para o desenvolvimento de novos fármacos.

**5.5 ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
MONOSSACARÍDEOS E XANTONAS NA GLICEMIA  
EM MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL  
(PARTE II)**

### **5.5.1 MONOSSACARÍDEOS**

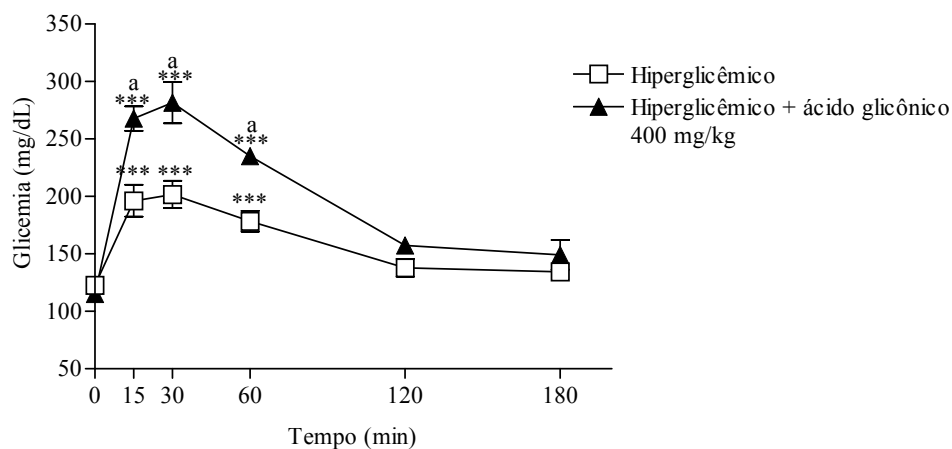
### 5.5.1.1 Efeito agudo do ácido glicônico via oral na glicemia de ratos normoglicêmicos



**Figura 41.** **A)** Estrutura química da glicose. **B)** Estrutura química do ácido glicônico. **C)** Efeito agudo do ácido glicônico na glicemia de ratos normoglicêmicos nas dosagens de 25, 50 e 100 mg/kg de peso corporal. **D)** Efeito agudo do ácido glicônico na glicemia de ratos normoglicêmicos nas dosagens de 200, 400 e 800 mg/kg de peso corporal. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=5).

As figuras 41C e 41D mostram as curvas de dose-resposta em função do tempo de tratamento do ácido glicônico na glicemia de ratos normoglicêmicos. Nenhuma das dosagens administradas via oral apresentou variação significativa na glicemia em animais normoglicêmicos. Como pode ser observado neste modelo experimental, nem com as doses de 200, 400 e 800 mg/kg houve qualquer efeito hipoglicêmico significativo quando comparadas ao tempo zero.

### 5.5.1.2 Efeito agudo do ácido glicônico na curva de tolerância à glicose



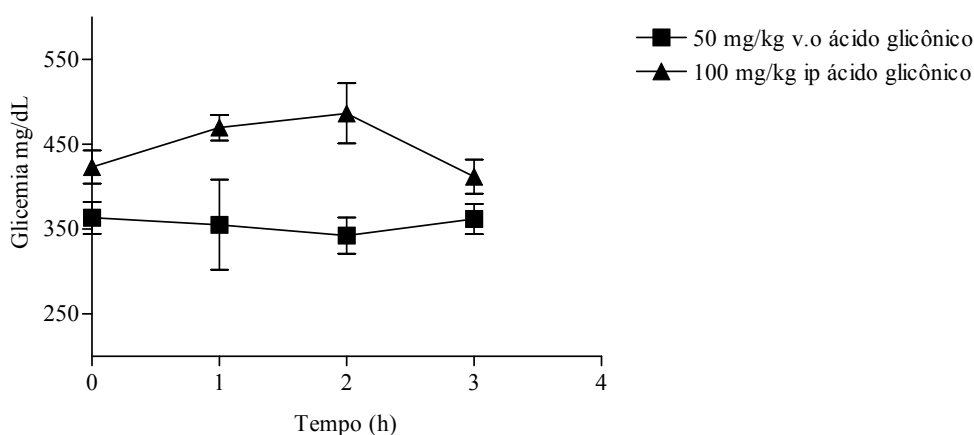
**Figura 42.** Efeito agudo do ácido glicônico na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=4). \*\*\*Significativo para  $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. <sup>a</sup>Significativo em relação ao controle hiperglicêmico para  $p \leq 0,001$ .

Com o intuito de avaliar a capacidade como secretagogo de insulina na regulação da glicemia através de uma carga de ácido glicônico, foi estudado o efeito agudo do ácido glicônico na curva de tolerância à glicose (figura 42). A dosagem utilizada para este estudo foi a de 400 mg/kg, dose intermediária utilizada no estudo anterior (Figura 41). Como pode-se observar no gráfico, ao contrário do esperado, ocorreu um aumento significativo na glicemia do grupo tratado com o ác. glicônico nos tempos de 15, 30 e 60 minutos após tratamento, quando comparado com o controle hiperglicêmico.

Estes resultados podem ser consequência do metabolismo hepático do ácido glicônico, o qual é convertido em glicose e liberado na corrente sanguínea (STETTEN; TOPPER, 1953). No entanto, este ácido não demonstrou capacidade como secretagogo de insulina antes de ser convertido em glicose, demonstrando que o efeito hipoglicemiante obtido com o complexo era devido ao efeito do vanádio (GUIOTOKU, 2002).



### 5.5.1.3 Efeito agudo do ácido glicônico via oral e intraperitoneal na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano



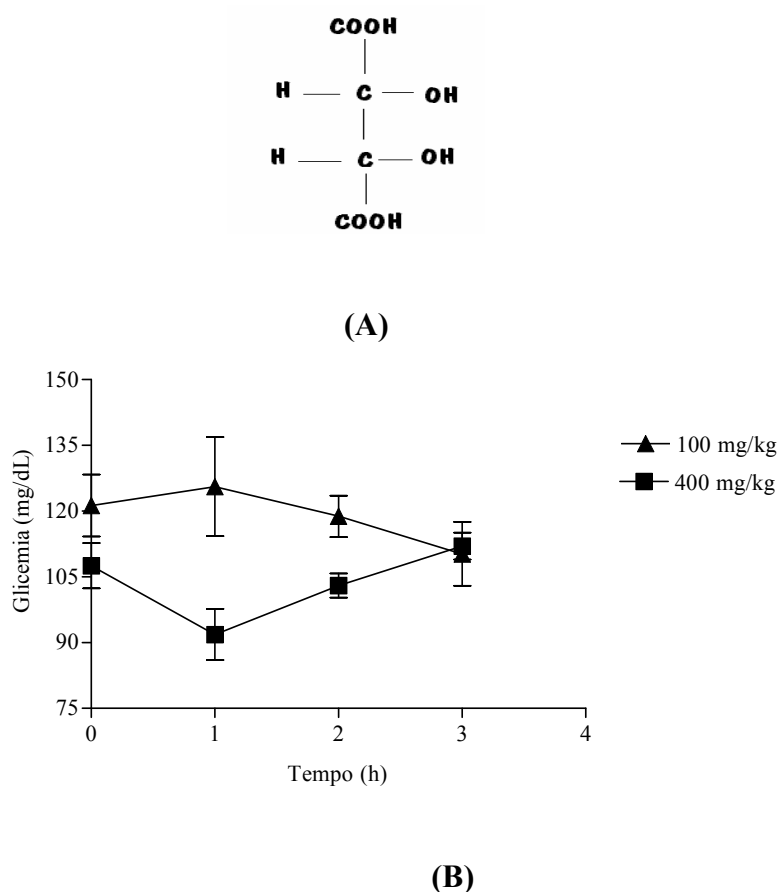
**Figura 43** Efeito agudo da administração do ácido glicônico via oral e intraperitoneal na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=4).

A figura 43 mostra a curva de dose resposta em função do tempo de tratamento com o ácido glicônico, via oral (50 mg/kg) e via intraperitoneal (100 mg/kg), na glicemia de ratos diabéticos. O ácido glicônico não alterou a glicemia em nenhum dos tempos testados, independente da dose e via de administração.

Monossacarídeos são uma classe interessante de compostos químicos presentes como parte de diversas moléculas biológicas, como ácidos nucleicos, polissacarídeos, antibióticos, glicoproteínas e glicolípídeos. A molécula de monossacarídeo possui vários grupos hidroxil funcionais que podem reagir como ligantes a metais de transição e produzir uma variedade de complexos (GUIOTOKU et al., 2006). Em resultados anteriores deste laboratório (GUIOTOKU, 2002), o ácido glicônico complexado com o vanádio administrado por via intraperitoneal em ratos diabéticos, apresentou diminuição significativa da glicemia. Apoiado nestes resultados e na semelhança da estrutura da glicose (Figura 41 A e 41 B), dando continuidade ao estudo com monossacarídeos, verificamos o efeito agudo *per se* do ácido glicônico em animais normoglicêmicos e hiperglicêmicos, com o objetivo de avaliar um possível efeito como secretagogo da insulina. Este composto foi estudado também na glicemia em ratos diabéticos, com o intuito de verificar um possível efeito insulinomimético.

Entretanto, ainda que tenham sido utilizadas doses diferentes por diferentes vias, usamos estes resultados para mostrar que não houve nenhuma tendência hipoglicemiante após estes tratamentos, independente da via, da dose, do tempo, e da fisiologia do animal, uma vez que estudamos ratos normoglicêmicos, normais hiperglicêmicos e diabéticos. Assim, podemos concluir que, ainda que o ácido glicônico comporte-se como um excelente ligante do vanádio, o efeito hipoglicemiante é, provavelmente, exclusivo daquele metal (GUIOTOKU, 2002; GUIOTOKU et al., 2006), o que, em nosso entender, não justifica um estudo futuro mais detalhado com este monossacarídeo.

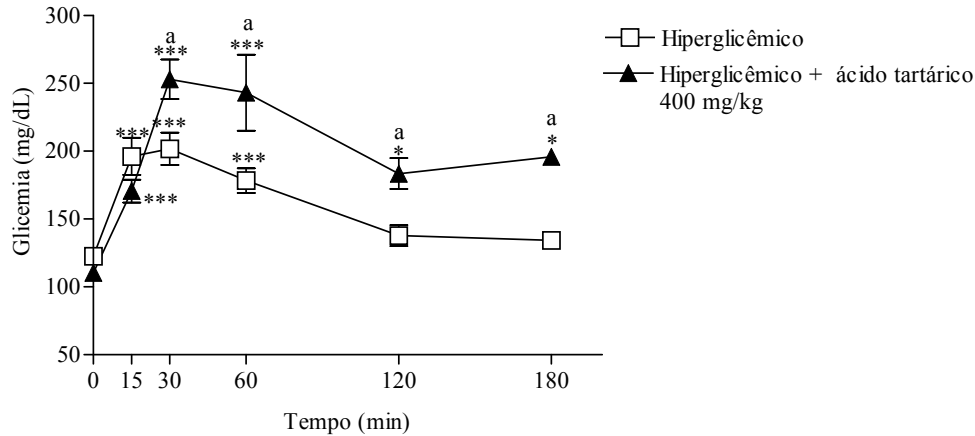
#### 5.5.1.4 Efeito do ácido tartárico na glicemia de animais normoglicêmicos



**Figura 44.** A) Estrutura química do ácido tartárico. B) Efeito agudo da administração do ácido tartárico administrado pela via oral na glicemia de animais normoglicêmicos. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=5).

A figura 44 B apresenta o efeito de duas diferentes doses do ácido tartárico na glicemia de ratos normoglicêmicos. Não foi observado resultado estatisticamente significativo na diminuição da glicemia com as dosagens testadas (100 e 400 mg/kg de peso corporal).

#### 5.5.1.5 Efeito do ácido tartárico na curva de tolerância à glicose

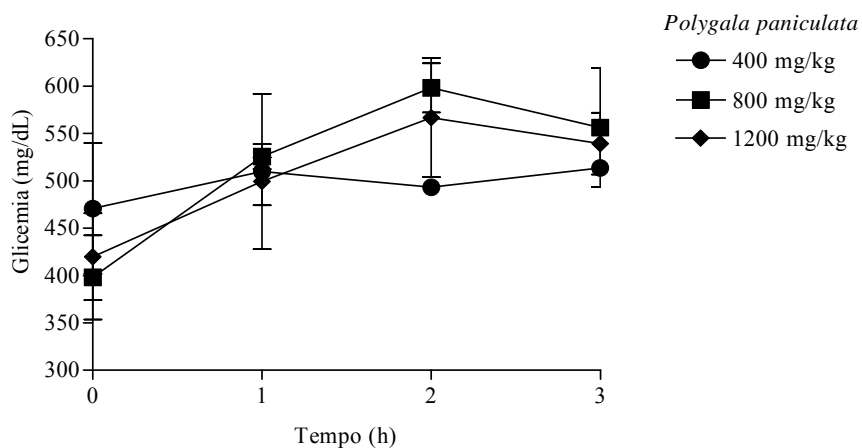


**Figura 45.** Efeito agudo do ácido tartárico na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata ( $n=4$ ). Significativo para  $*p \leq 0,05$  ou  $***p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para  $^ap \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico.

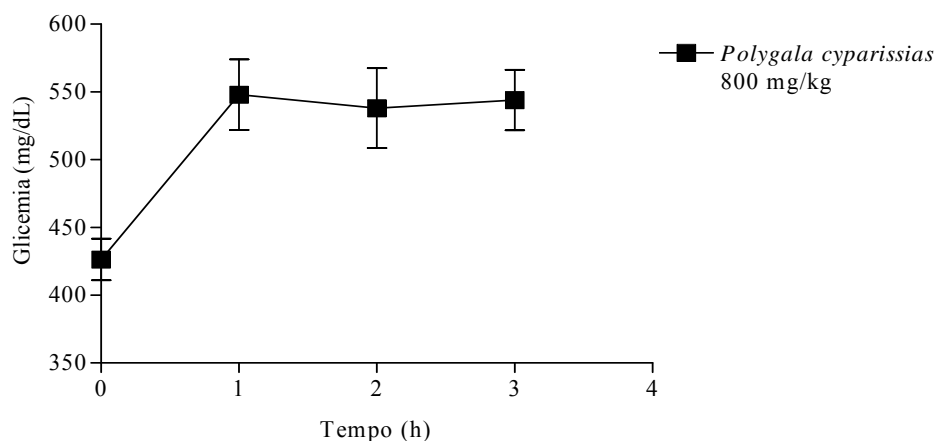
Na figura 45 observa-se o efeito agudo do ácido tartárico na curva de tolerância à glicose com uma dose de 400 mg/kg. Esta dosagem foi escolhida em função dos resultados obtidos com o estudo agudo do ácido tartárico em animais normoglicêmicos. Escolhemos a dose mais alta por ter demonstrado uma tendência em diminuir a glicemia em 1 hora após o tratamento. No entanto, ficou constatado um aumento significativo na glicemia no grupo tratado com o ácido tartárico nos tempos de 30, 60, 120 e 180 minutos comparado aos respectivos grupos controles. Com base nos resultados acima, com relação ao ácido tartárico, concluímos que este monossacarídeo não atua possivelmente como secretagogo da insulina, pelo menos neste protocolo experimental.

## **5.5.2 ESTUDO DE EXTRATOS E FRAÇÕES COM XANTONAS NA GLICEMIA DE RATOS**

### 5.5.2.1 Efeito da *Polygala paniculata* (EBEtOH) e da *Polygala cyparissias* (AcEt) administrada pela via oral na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano



(A)



(B)

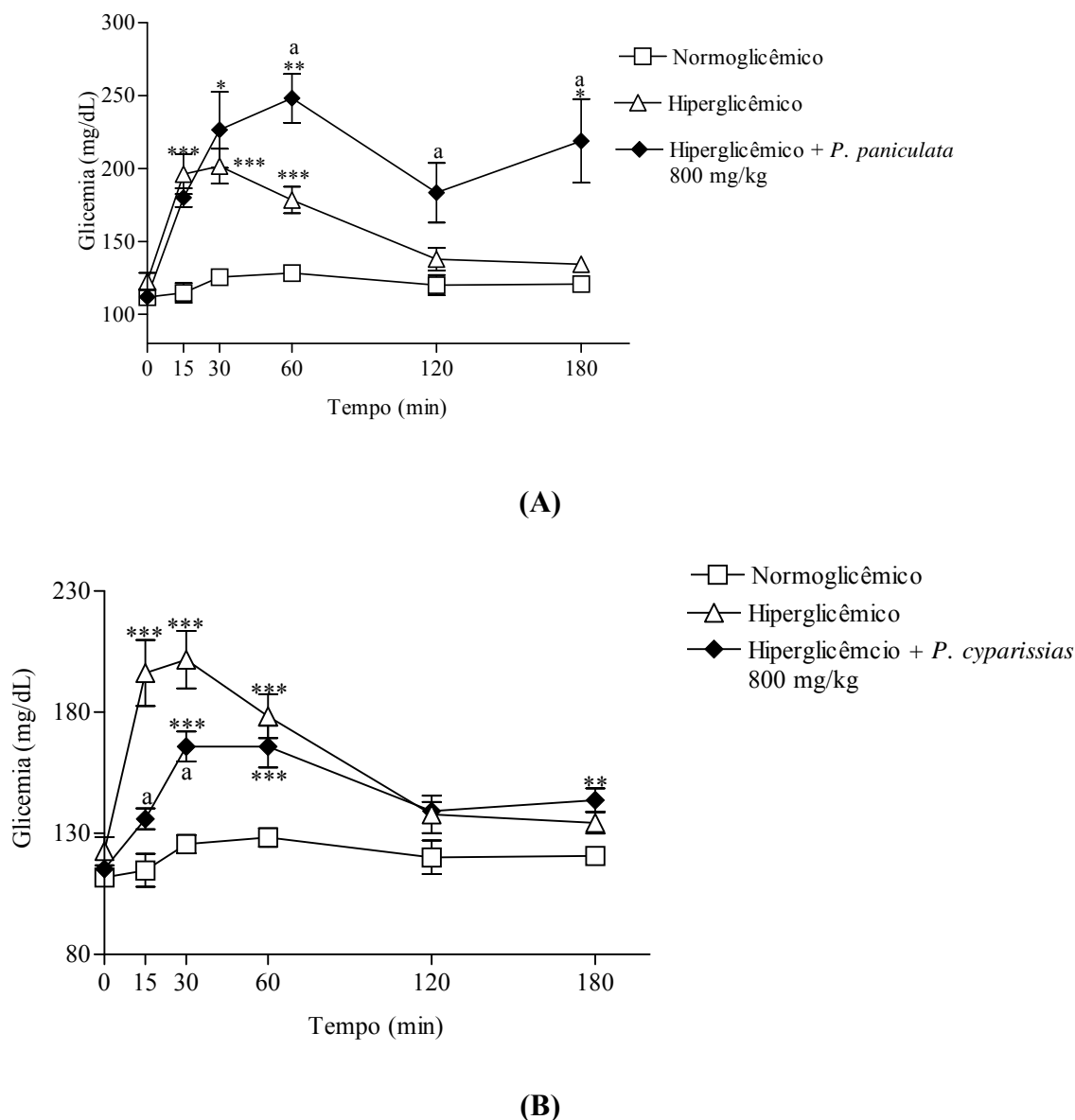
**Figura 46.** **A)** Efeito da *Polygala paniculata* (EBEtOH) via oral na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=4). **B)** Efeito da *Polygala cyparissias* (AcEt) via oral na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=4).

A figura 46 A mostra o comportamento da glicemia de ratos diabéticos no tratamento via oral com diferentes doses (400, 800 e 1200 mg/kg) do extrato bruto etanólico da *P. paniculata*. Como pode ser observado, mesmo em ratos diabéticos, não houve redução da

glicemia em nenhum dos tempos estudados. A figura 46 B mostra o comportamento da glicemia de ratos diabéticos no tratamento via oral na dosagem de 800 mg/kg do extrato acetato de etila da *P. cyparissias*. Estes resultados mostram que diferentes polygalas e diferentes frações que contêm xantonas não foram hábeis em diminuir a glicemia em ratos diabéticos.

Em estudos com diferentes extratos e frações de plantas como *Vitex megapotamica* (ZANATTA et al., 2007) e *Bauhinia forficata* (SILVA et al., 2002), ricas em diferentes compostos, como esteróides e flavonóides, respectivamente, observou-se efeito hipoglicemiante, quando administrados a ratos diabéticos induzidos com aloxano. Entretanto, com relação ao presente estudo realizado com extrato e fração de diferentes polygalas, ainda que estes contenham xantonas, não observamos efeito hipoglicemiante, como já demonstrado para outras frações etanólicas com este modelo experimental

### 5.5.2.2 Efeito da *Polygala paniculata* (EBEtOH) e da *Polygala cyparissias* (AcEt) na curva de tolerância à glicose.



**Figura 47.** **A)** Efeito agudo da *P. paniculata* (EBEtOH) na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicatas (n=4). **B)** Efeito agudo da *P. cyparissias* (AcEt) na curva de tolerância à glicose. Os resultados são a média  $\pm$  E.P.M. de experimentos realizados em duplicata (n=7). Significativo para \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,01$  ou \*\*\* $p \leq 0,001$  em relação ao tempo zero. Significativo para <sup>a</sup> $p \leq 0,05$  em relação ao controle hiperglicêmico.

A figura 47 A mostra o efeito do extrato bruto etanólico da *P. paniculata* 800 mg/kg na curva de tolerância à glicose. A administração desta fração pela via oral induziu um

aumento significativo na glicemia do grupo tratado nos tempos de 60, 120 e 180 minutos após tratamento, quando comparado ao controle hiperglicêmico.

Com relação à *P. cyparissias* (figura 47 B), a fração acetato de etila, rica em xantonas, diminuiu a glicemia de maneira significativa (30,70 %) já aos 15 minutos após tratamento via oral, em relação ao controle hiperglicêmico, sendo que esta redução permaneceu significativa aos 30 minutos (17,78 %).

Com relação às xantonas, estudos anteriores demonstraram potencial capacidade hipoglicemiante deste composto, como foi descrito para a *Mangifera indica* (rica em xantonas), efeito anti-hiperglicêmico, antilipidêmico e anti-aterogênico (MURUGANANDAN et al., 2005) e também para *swerchirina*, xantona isolada da *S. chirayita*, que promoveu aumento da captação de glicose e síntese de glicogênio no músculo *in vitro* e elevou a liberação de insulina estimulada por glicose em ilhotas isoladas. (SAXENA et al., 1993), e, além disso, também diminuiu os níveis sanguíneos de glicose em ratos diabéticos induzidos com estreptozotocina (SAXENA et al., 1991).

Ainda que dados na literatura demonstrem potencial atividade hipoglicemiante de xantonas em ratos diabéticos, os estudos realizados com diferentes espécies de Polygalas não foram hábeis em diminuir a glicemia neste modelo experimental. Entretanto, em ratos hiperglicêmicos, a fração acetato de etila da *P. cyparissias*, rica em xantonas diminuiu a glicemia de maneira significativa, sugerindo que compostos presentes nesta fração possam atuar como potenciais agentes hipoglicemiantes, através da secreção de insulina. Assim, é necessário o isolamento de compostos da fração acetato de etila da *P. cyparissias*, para continuidade deste estudo, objetivando a descoberta de novas xantonas e estudo das possíveis ações antidiabéticas.



## 6 CONCLUSÕES

- O modelo experimental induzido com aloxano caracterizou o estado diabético.
- Foi caracterizada uma curva de tolerância à glicose oral típica em ratos normoglicêmicos, na presença ou não de medicamentos hipoglicemiantes (insulina e tolbutamida). A insulina administrada por via intraperitoneal foi efetiva em reduzir a glicemia de animais hiperglicêmicos neste modelo experimental (ação rápida; 15 minutos). A tolbutamida administrada por via oral foi efetiva em reduzir a glicemia de animais hiperglicêmicos neste modelo experimental (ação lenta; 60 minutos).
- Chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído diminuíram significativamente a glicemia em ratos hiperglicêmicos, sendo que as substituições nas posições 3' e/ou 4' do anel A foram essenciais para a atividade hipoglicemiante desses compostos. Na curva de dose-resposta do composto 03 a dose de 10 mg/kg demonstrou uma inibição máxima da glicemia em torno de 99% quando comparado ao grupo normoglicêmico após 1 hora de tratamento. Já o composto 05, impediu o aumento da glicemia desde os 30 minutos atingindo uma inibição da glicemia em torno de 95% com a dose de 10 mg/kg após 1 hora de tratamento. Chalconas derivadas do 2-naftaldeído diminuíram significativamente a glicemia em ratos hiperglicêmicos, sendo que as substituições nas posições 3' e/ou 4' do anel A foram essenciais para a atividade hipoglicemiante desses compostos. Com relação às curvas de dose-resposta dessa classe, o composto 12, na dose de 10 mg/kg inibiu o aumento da glicemia em torno de 80% após 30 minutos de tratamento quando comparado ao grupo normoglicêmico. Já o composto 13, as doses de 10 e 15 mg/kg inibiram o aumento da glicemia em 71% após 15 minutos de tratamento. Chalconas derivadas do 3,4-metilenodióxi-benzaldeído e do 2-naftaldeído com substituintes nas posições 2', 5', e/ou 6' não apresentam efeito hipoglicemiante, bem como as chalconas derivadas da xantoxilina.
- Os compostos 10, 12 e 13 apresentaram ação hipoglicemiante muito semelhante à insulina lispro (0,05 UI) em 15 minutos (ação rápida), sugerindo que os grupamentos nitro no anel A otimizam a ação desta. Os compostos 10, 12 e 05 apresentaram ação hipoglicemiante muito semelhante à insulina lispro (0,05 UI) em 30 minutos (ação

rápida), sugerindo que o grupamento nitro no anel A, bem como o substituinte metóxi nas posições 3'e 4' tornam os compostos mais efetivos com relação a outros compostos retiradores de elétrons no anel A (composto 07) ou mono-substituições com grupamentos metóxi neste mesmo anel. Os compostos que apresentaram maior eficácia em 1 hora, 03 e 05, demonstraram redução significativamente maior que o composto 01 e a outros compostos testados (12, 13 e 14) e proporcionaram redução significativa da glicemia, muito semelhante à tolbutamida e insulina lispro. Isto demonstra que substituintes doadores de elétrons no anel A, nas posições 3'e 4' das chalconas eleva a potência desses compostos após 1 hora de tratamento em nível dos medicamentos testados.

- O ácido glicônico não mostrou efeito hipoglicemiante “*per se*” na glicemia em ratos normoglicêmicos, hiperglicêmicos e diabético
- O ácido tartárico não diminuiu a glicemia em ratos normoglicêmicos, hiperglicêmicos e, possivelmente, não atue como secretagogo de insulina.
- O extrato bruto etanólico da *P. paniculata* não reduziu os níveis glicêmicos em animais hiperglicêmicos e diabéticos em nenhuma das doses e tempos estudados.
- A fração acetato de etila da *P. cyparissias*, rica em xantonas, reduziu significativamente a glicemia de ratos hiperglicêmicos, mas não demonstrou efeito hipoglicemiante em ratos diabéticos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-BARRY, J.A.; ABDEL-HASSAN, I.A.; AL-HAKIEM, M.H.H. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 58, p. 149-155, 1997.

AHMAD, S. et al. Cardamonin, inhibits pro-inflammatory mediators in activated RAW 264.7 cells and whole blood. **European Journal of Pharmacology**, v. 538, p. 188-194, 2006.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 29, p. 43-48, 2006.

BALL, S.G.; BARBER, T.M. Molecular development of the pancreatic  $\beta$  cell: implications for cell replacement therapy. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 14, p. 349-355, 2003.

BARREIRO, E.J. Desenho de fármacos a partir de produtos naturais. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J.B. 1 ed. **Plantas Mediciniais: sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. Cap. 7, p. 238-260.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; DE ARAÚJO JR, J.X. O uso de matérias-primas vegetais para a síntese de fármacos. In: SIMÕES, C.M.O.; *et al.* (orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001. Cap. 8. p. 127-138.

BASNET, O. et al. Bellidifolin stimulates glucose uptake in rat 1 fibroblasts and ameliorates hyperglycemia in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **Planta Medica**, v. 61, p. 402-405, 1995.

BATOVSKA, D. et al. Study on the substituents' effects of a series of synthetic chalcones against the yeast *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2006. No prelo. Disponível em: <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)>. Acesso em: 20 out 2006.

BEARDSALL, K. et al. Applied physiology of glucose control. **Current Paediatrics**, v. 13, p. 543-548, 2003.

CALIXTO, J.B. et al. Effects of *Sebastiania schottiana* extracts on isolated smooth muscle contraction. **Planta Médica**, v. 6, p. 444-445, 1986.

CAMBIE, R.C. et al. *Ent-14[s]*, 16 $\beta$ , 17-trihydroxyatisan-3-one and futher constituents from *Euphorbia fidijsana*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 287-292, 1991.

CAMPOS, R.O.P. et al. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and preliminary study of a xanthone isolated from *Polygala cyparissias* (Polygalaceae). **Life Sciences** v.61, p. 1619-1630, 1997.

CAZAROLLI, L.H. et al. Follow-up studies on glycosylated flavonoids and their complexes with vanadium: Their anti-hyperglycemic potential role in diabetes. **Chemico-Biological Interactions**, v.163, p. 177-191, 2006.

CECHINEL FILHO, V. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998.

CERVELLATI, R. et al. Polyphenols from *Polygala* spp. and their antioxidant activity. **Chemistry & Biodiversity**, v. 1, p. 415-425, 2004.

CHAN, J.C.N. et al. Role of metformin in the initiation of pharmacotherapy for type 2 diabetes: An Asian-Pacific perspective. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2006. No prelo. Disponível em: <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)>. Acesso em: 10 out 2006.

CHEENPRACHA, S. et al. Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 14, p. 1710-1714, 2006.

CHEN, R.M. et al. Natural PTP1B inhibitors from *Broussonetia papyrifera*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, p. 3387-3390, 2002.

CHIARADIA, L.D. Obtenção de chalconas análogas com potencial atividade biológica. Dissertação de mestrado em química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

CHUNG, H.Y. YUNG, I.K.S.; KIM, J.S. Comparison of volatile in dried scallops (*Chlamys farreri* and *Patinopecten yessoensis*) prepared by boiling and steaming methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 192-202, 2001.

CONCANNON, P. et al. Evidence for susceptibility loci from four genome-wide linkage scans in 1,435 multiplex families. **Diabetes**, v. 54, p. 2995-3001, 2005.

CRISTIANO, R. et al. Two xanthenes from *Polygala paniculata* and confirmation of the 1-Hidroxy-2,3,5-trimetoxy-xanthone at trace level by HRGC-MS. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, p. 490-494, 2003.

DE GODOY, G.F.; MIGUEL, O.G.; MOREIRA, E.A. Antibacterial activity of xanthoxylin, constituent of *Sebastiania schottiana*. **Fitoterapia**, v. 62, p. 269-270, 1991.

DE SOUSA E. et al. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-( $\alpha$ )-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1-4, 2004.

DEAN, L.; MC ENTYRE, JR. **The genetic landscape of diabetes**. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?call=bv.View..ShowTOC&rid=diabetes.TOC&depth=1>>. Acesso em: 25 set. 2006.

DELMULLE, L. et al. Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.) in human prostate cancer cell lines. **Phytomedicine**, 2006. No prelo. Disponível em: <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)>. Acesso em: 20 out 2006.

DESHPANDE, A.M. et al. Synthesis and screening of a combinatorial library of naphthalene substituted chalcones: inhibitors of leukotriene B<sub>4</sub>. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 1237-1240, 1999.

DIMMOCK, J.R. et al. Bioactivities of chalcones. **Current Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 1125-1149, 1999.

DOMÍNGUEZ, J.N. et al. Synthesis of quinolinyl chalcones and evaluation of their antimalarial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 555-560, 2001.

FARINA, M. et al. Protective effects of *Polygala paniculata* extract against methylmercury-induced neurotoxicity in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, p.1-6, 2005.

FOLMER, F. et al. Inhibition of TNF $\alpha$ -induced activation of nuclear factor kB by kava (*Piper methysticum*) derivatives. **Biochemical Pharmacology**, v. 71, p. 1206-1218, 2006.

FUGIWARA, T.; HORIKOSHI, H. Troglitazone and related compounds therapeutic potencial beyond diabetes. **Life Sciences**, v. 67, p. 2405-2416, 2000.

GERICH, J.E. Novel insulins: Expanding options in diabetes management. **The American Journal of Medicine**, v. 113, p. 308-316.

GRIBBLE, F.M.; REIMANN, F. Differential selectivity of insulin secretagogues mechanisms, clinical implications, and drugs interactions. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 17, p.11-15, 2003.

GUIOTOKU, M. Estudo dos equilíbrios de monossacarídeos com íon vanádio (IV) e zinco (II) em solução aquoso. Dissertação de mestrado em química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

GUIOTOKU, M.; SILVA, F.R.M.B.; AZZOLINI, J.C.; MERCÊ, A. L. R.; MANGRICH, A.S.; SALA, L.F.; SZPOGANICZ, B. Monosaccharides and the VO(IV) metal ion: Equilibrium, 3 thermal studies and hypoglycemic effect. **Polyhedron**, 2006. No prelo. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: 20 out 2006.

GUTTERIDGE, C.E. et al. In vitro and in vivo efficacy and in vitro metabolism of 1-phenyl-3-aryl-2-propen-1-ones against *Plasmodium falciparum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 5682-5686, 2006.

HADDAD, M. et al. New acylated saponins from *Polygala myrtifolia*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 86, p. 3055-3065, 2003.

HAMBURGER, M.; GUPTA, M.; HOSTETTMANN, K. Coumarins from *Polygala paniculata*. **Planta Médica**, v. 3, p. 215-217, 1985.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992 **Phytochemistry**, v. 55, p. 481-504, 2000.

HEI, Y.J. Recent progress in insulin signal transduction. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 40, p. 123-135, 1998.

HENQUIN, J.C. Pathways in  $\beta$ -cell stimulus-secretion coupling as targets for therapeutic insulin secretagogues. **Diabetes**. v. 53, p. 48-58, 2004.

HERENCIA, F. et al. 4-dimethylamino-3',4'-dimethoxychalcone downregulates iNOS expression and exerts anti-inflammatory effects. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 30, p. 43-50, 2001.

HSU, Y.L. et al. Chalcone inhibits the proliferation of human breast cancer cell by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 704-713, 2005.

ISLAS-ANDRADE, S. et al. Streptozotocin and alloxan in experimental diabetes: Comparison of the two models in rats. **Acta Histochemistry Citochemistry**, v. 33, p. 201-208, 2000.

ISRAF, D.A. et al. Cardamonin inhibits COX and iNOS expression via inhibition of p65NF- $\kappa$ B nuclear translocation and I $\kappa$ -B phosphorylation in RAW 264.7 macrophage cells. **Molecular Immunology**, v. 44, p. 673-679, 2007.

JIANG, Y.; TU, P-F. Xanthone O-glycosides from *Polygala tenuifolia*. **Phytochemistry**, v. 60, p. 813-816, 2002.

JORGE, A.P. et al. Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on 14C-glucose uptake in rat soleus muscle. **Chemico-Biological Interaction**, v. 149, p. 89-96, 2004.

JUNG, J.I. et al. Isoliquiritigenin induces apoptosis by depolarizing mitochondrial membranes in prostate cancer cells. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, p. 689-696, 2005.

KAMEI, R.; KADOKURA, M.; KITAGAWA, Y. 2-benzyloxychalcone derivatives stimulate glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. **Life Sciences**, v. 73, p. 2091-2099, 2003.

KARTHIKEYAN, M.S.; HOLLA, B.S.; KUMARI, N.S. Synthesis and antimicrobial studies on novel chloro-fluorine containing hydroxy pyrazolines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2006. No prelo. Disponível em: <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)>. Acesso em: 20 out 2006.

KIAT, T.S. et al. Inhibitory activity of cyclohexenyl chalcone derivatives and flavonoids of fingerroot, *Boesenbergia rotunda* (L.), towards dengue-2 virus NS3 protease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 16, p. 3337-3340, 2006.

KOUNO, I. et al. A xylosylglucoside of zanthoxylin from *Sapium sebiferum* root bark. **Phytochemistry**, v. 22, p.790-791, 1983.

LALL,N.; HUSSEIN, A.A.; MEYER, J.M.M. Antiviral and antituberculous activity of *Helichrysum melanacme* constituents. **Fitoterapia**, v. 77, p. 230-232, 2006.

LAWRENCE, N.J. et al. Effects of  $\alpha$ -substitutions on structure and biological activity of anticancer chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2006. No prelo. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: 20 out 2006.

LÊ FLEM, G. et al. Synthesis, and functional properties of a modified human insulin A-chain: implication in a 'mini-insulin' structure determination. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 2111-217, 2002.

LI, W. et al. Xanthones from *Polygala caudata*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 953-958, 1999.

LINDHOLM, A. New insulins in the treatment of diabetes mellitus. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 16, p. 475-492, 2002.

LIU, X.; GO, M. Antiproliferative properties of piperidinylchalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 153-163, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

MATHIESEN, L.; MALTERUD, K.E.; SUND, R.B. Hydrogen bond formation basis for radical scavenging activity: a structure-activity study of C-methylated dihydrochalcones from *Myrica gale* and structurally related acetophenones. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 22, p.307-311, 1997.

MERCAN, D.; KADIATA, M.M.; MALAISSE, W.J. Differences in the time course of the metabolic response of  $\beta$  and non- $\beta$  pancreatic islet cells to D-glucose and metabolized or non-metabolized hexose esters. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 262, p. 346-349, 1999.

MIURA, T. et al. Antidiabetic activity of a xanthone compound, mangiferin. **Phytomedicine**, v. 8, p. 85-87, 2001.

MIYAZAWA, M.; SHIMAMURA, H.; KAMEOKA, H. Volatile components of the rhizomes of *Dioscorea japonica*. **Natural Product Letters**, v. 9, p. 245-248, 1997.

MODZELEWSKA, A. et al. Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 3491-3495, 2006.



MONOSTORY, K. et al. A study on CYP1A inhibitory action of *E*-2-(4'-methoxybenzylidene)-1-benzosuberone and some related chalcones and cyclic chalcone analogues. **Toxicology**, v. 184, p. 203- 210, 2003.

MOORE, M.C.; CHERRINGTON, A.D.; WASSERMAN, D. H. Regulation of hepatic and peripheral glucose disposal. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 17, p. 343-364, 2003.

MURUGANANDAN S. et al. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 497-501, 2005.

NIELSEN, S.F. et al. Antibacterial chalconas – bioisosteric replacement of the 4' - hydroxy group. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v.12, p. 3047-3054, 2004.

NOOKANDEH, A. et al. Xanthohumol metabolites in faeces of rats. **Phytochemistry**, v. 65, p. 561–570, 2004.

NOZAWA, H. Xanthohumol, the chalcone from beer hops (*Humulus lupulus* L.), is the ligand for farnesoid X receptor and ameliorates lipid and glucose metabolism in KK-Ay mice. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 336, p. 754-761, 2005.

O'BRIEN, R.M.; GRANNER, D.K. Regulation of gene expression by insulin. **Physiological Reviews**, v. 76, p. 1109-1161, 1996.

OIKNINE, R.; MOORADIAN, A.D. Drug therapy of diabetes in the elderly. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 57, p. 231-239, 2003.

PERFETTI, R.; AHMAD, A. Novel sulfonylurea and non-sulfonylurea drugs to promote the secretion of insulin. **Trends In Endocrinology and Metabolism**, v. 11, p. 218-223, 2000.

PETERSEN, K.F.; SHULMAN, G.I. Etiology of insulin resistance. **The American Journal of Medicine**, v. 119, p. 10S-16S, 2006.

PIÑERO, J. et al. New administration model of *trans*-chalcone biodegradable polymers for the treatment of experimental leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 98, p. 59–6, 2006.

PINHEIRO, T. R. et al. Three xanthenes from *Polygala cyparissias*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 725-728, 1998.

PIZZOLATTI, M.G.; LUCIANO, C.; MONACHE, F. D. Styryl- and dihydrostyryl-2-pyrone derivatives from *Polygala sabulosa*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 819-822, 2000.

PIZZOLATTI, M.G. et al. Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 21-26, 2002.

PIZZOLATTI, M.G.; PEREIRA, W.S.; MONACHE, F.D. A new styryl-2-pyrone derivative from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 603-606, 2004.

PROIETTO, J. Mechanisms of insulin resistance caused by nutrient toxicity. **Hepatology Research**, v. 33, p. 87-91, 2005.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

RODEN, M.; BERNROIDER, E. Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 17, p. 365–383, 2003.

ROJAS, J. et al. ttCH, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase expression with antiarthritic properties. **European Journal of Pharmacology**, v. 465, p. 183– 189, 2003.

ROSAK, C. The pathophysiologic basis of efficacy and clinical experience with the new oral antidiabetic agents. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 16, p. 123-132, 2002.

SATO, M. et al. Antibacterial activity of hidroxychalcone against methicillin-resitant *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 6, p. 227-231, 1996.

SATYANARAYANA, M. et al. Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 883-889, 2003.

SAXENA, A.M.; BAJAPAI, M.B.; MUKHERJEE, S.K. Swerchirin induced blood sugar lowering of streptozotocin treated hyperglycemic rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 29, p. 674-675, 1991.

SAXENA, A.M. et al. Mechanism of blood sugar lowering by a swerchirin-containing hexano fraction (SWI) of *Swetia chirayita*. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 31, p. 178-181, 1993.

SEO, W.D. et al. Sulfonamide chalcone as a new class of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 5514-5516, 2005.

SEVERI, F. et al. Synthesis and activity of a new series of chalcones as aldose reductase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, p. 859-866, 1998.

SHUKLA, P. et al. Chalcone based aryloxypropanolamines as potential antihyperglycemic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2006. No prelo. Disponível em: <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)>. Acesso em: 20 nov 2006.

SILVA, F.R.M.B. et al. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 33-37, 2002.

SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed.. Ed. Universidade/UFRGS/Ed UFSC, 2001.

STETTEN, M.R.; TOPPER, Y. Pathways from gluconic acid to glucose *in vivo*. **The Journal of Biological Chemistry**, p. 653-664, 1953.

TAHA, C.; KLIP. The insulin signaling pathway. **The Journal of Membrane Biology**, v.169, p. 1-12, 1999.

UGAZ, O.L. **Investigacion fitoquimica : metodos en el estudio de productos naturales**. 2. ed. Lima: Pontificia Universidad Catolica del Peru: Fondo Editorial, 1994.

VALLA, A. et al. New syntheses and potential antimalarial activities of new 'retinoid-like chalcones'. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 142-146, 2005.

WHO, World Health Organization. Diabetes Mellitas. Disponível em <[http://www.who.int/diabetes/facts/world\\_figures/en/print.html](http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/print.html)>. Acessado em setembro de 2006.

WILD, S. et al. Global prevalence of diabetes. **Diabetes Care**, v. 27, p. 1047-1053, 2004.

WURDACK, J.J; SMITH, L. B. Poligaláceas in: REITZ, P. R. **Flora Ilustrada Catarinense**, 1971, p. 3-70.

YABE, T. et al. Induction of NGF synthesis in astrocytes by onjisaponins of *Polygala tenuifolia*, constituents of Kampo 9(Japanese herbal) medicine, Ninjin-Yoei-To. **Phytomedicine**, v. 10, p. 106-114, 2003.

YAMADA, C.B.S. Fitoterapia sau história e importância. *Racine*, p. 50-51, 1998.  
ZANATTA, L. et al. Effect of crude extract and fractions from *Vitex megapotamica* leaves on hyperglycemia in alloxan-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 151-155, 2007.

ZHAO, L.M. et al. Synthesis and evaluation of antiplatelet activity of trihydroxychalcone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 5027–5029, 2005.

ZOMLEFER, W.B. **Guide to Flowering Plant Families**. 50 ed. Chapel Hill: The University of North Carolina Press, 1994.p. 143–145.

ZUANAZZI, J. A. S. **Flavonóides**. In: SIMÕES, C. M. O. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001. Cap. 23. p. 499-526.