

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

**ANÁLISE COMPARATIVA DE CÁPSULAS À BASE DE  
BERINJELA (*Solanum melongena* L.) E AVALIAÇÃO DE  
SUA ATIVIDADE COMO INTERFERENTE EM TESTES  
LABORATORIAIS *in vitro***

MESTRANDA: ELAINE GROPP BRIETZIG

ORIENTADORA: PROF<sup>ª</sup> DR<sup>ª</sup> MIRIAM DE BARCELLOS FALKENBERG

FLORIANÓPOLIS

2003

ELAINE GROPP BRIETZIG

**ANÁLISE COMPARATIVA DE CÁPSULAS À BASE DE  
BERINJELA (*Solanum melongena* L.) E AVALIAÇÃO DE  
SUA ATIVIDADE COMO INTERFERENTE EM TESTES  
LABORATORIAIS *in vitro***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – como requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Farmácia. Professora Orientadora Dr<sup>a</sup> Miriam de Barcellos Falkenberg.

FLORIANÓPOLIS

2003

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a todas as dificuldades que enfrentei para realizá-lo, pois cada batalha vencida mostrou-me que não há na vida melhor oportunidade para a auto-superação que a que surge junto aos problemas.

“A mais bela e profunda emoção que podemos viver é a sensação de mistério. É ela a fonte de toda a verdadeira ciência. Aquele que não conhece essa emoção, que não mais pode se maravilhar e sentir-se pasmo de admiração, está praticamente morto. O sabermos que aquilo que é impenetrável para nós realmente existe, manifestando-se como a mais sublime sabedoria e a mais radiante beleza, que nossas débeis faculdades podem apreender somente em suas formas primitivas, este conhecimento, este sentimento, é a essência da verdadeira experiência.”

- ALBERT EINSTEIN-

## **AGRADECIMENTOS**

É interessante como em certas situações, especialmente quando estamos para dar um passo importante em nossa vida ou quando estamos infelizes porque algo não aconteceu como planejamos, parece que Deus coloca as pessoas certas em nosso caminho que nos ajudam a tomar as decisões apropriadas e a superar as dificuldades. Por este motivo e por ter-me proporcionado a oportunidade de experimentar a vida – a maior de todas as experiências - agradeço à Deus. No entanto, foi através de meus pais, Leoremar e Jane, que Ele me mostrou o verdadeiro sentido da vida e o valor do amor. Assim, agradeço a eles por estarem presentes em todos os momentos de minha vida. Agradeço também ao meu marido Rui e a todos que tenho a enorme honra de chamar de amigos, pois sem seu apoio e paciência minha caminhada teria sido muito mais difícil. Também sou grata a minha orientadora Professora Miriam de Barcellos Falkenberg, que me aceitou como orientanda, mesmo conhecendo minhas várias limitações, dedicando-me muitos dos seus preciosos minutos. Igualmente quero agradecer ao Professor Sérgio Fernando Torres de Freitas, pela ajuda que me prestou com a análise estatística do trabalho, e também a todos os professores do Curso de Especialização em Ciência do Laboratório Clínico da UFSC, o qual me abriu novamente as portas da universidade, permitindo a realização de um sonho que há muito acalentava. Gostaria ainda de registrar meus agradecimentos ao Laboratório Catarinense, à Rede de Farmácias do SESI, à Farmácia Botica do Vale, à Farah Diagnostics, à BIOBRÁS S. A. e ao Hospital Municipal São José de Joinville/SC, empresas que mui gentilmente colaboraram doando materiais ou espaço físico para a execução deste estudo. Que todos possam partilhar comigo do mesmo sentimento de realização.

- ELAINE GROPP BRIETZIG -

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE QUADROS</b>	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>xv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
2.1. Objetivo geral	4
2.2. Objetivos específicos	4
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>5</b>
3.1. BERINJELA	5
3.1.1. Aspectos botânicos	5
3.1.2. Constituintes da berinjela	6
3.1.2.1. Composição geral	6
3.1.2.2. Substâncias fenólicas	6
3.1.2.3. Enzimas	7
3.1.2.4. Alcalóides	9
3.1.2.5. Outros Constituintes	10
3.1.3. Atividades biológicas investigadas para a berinjela	11
3.1.3.1. Antioxidante	11
3.1.3.2. Inibição de enzimas	13
3.1.3.3. Alterações dos níveis lipídicos	15
3.1.3.4. Outras atividades	17

3.1.4.	Preparações à base de berinjela -----	18
3.2.	FLAVONÓIDES -----	19
3.2.1.	Aspectos gerais -----	19
3.2.2.	Atividades de flavonóides -----	21
3.2.3.	Metabolismo de flavonóides -----	22
3.2.4.	Antocianinas e antocianidinas -----	25
3.3.	INTERFERÊNCIA EM EXAMES -----	26
3.3.1.	Aspectos gerais -----	26
3.3.2.	Interferência analítica -----	29
3.3.2.1.	Potencial de interferência analítica envolvendo reação de óxido-redução ----	30
3.3.2.2.	Berinjela como potencial interferente em exames -----	32
<b>4.</b>	<b>MATERIAIS -----</b>	<b>35</b>
<b>5.</b>	<b>MÉTODOS -----</b>	<b>37</b>
5.1.	ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUTOS À BASE DE BERINJELA -	37
5.1.1.	Análise das informações contidas nas embalagens -----	37
5.1.2.	Análise macroscópica -----	37
5.1.3.	Teste de solubilidade dos extratos -----	37
5.1.4.	Testes com resíduo insolúvel em metanol/água (1:1)-----	38
5.1.4.1.	Cálculo do rendimento -----	38
5.1.4.2.	Teste de caracterização de amido -----	38
5.1.5.	Análises cromatográficas -----	39
5.1.5.1.	Definição do melhor sistema cromatográfico -----	39
5.1.5.2.	Preparo das amostras para análise cromatográfica comparativa -----	40
5.1.5.3.	Análise cromatográfica comparativa -----	40
5.1.6.	Determinação do índice de espuma (IE) -----	40
5.1.7.	Dosagem de fenóis totais -----	41

5.2.	ANÁLISE DO POTENCIAL DE INTERFERÊNCIA <i>in vitro</i> -----	41
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO -----</b>	<b>44</b>
6.1.	ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUTOS À BASE DE BERINJELA -	44
6.1.1.	Análise das informações contidas nas embalagens -----	44
6.1.2.	Análise macroscópica -----	45
6.1.3.	Teste de solubilidade dos extratos -----	46
6.1.4.	Testes com resíduo insolúvel -----	46
6.1.4.1.	Cálculo do rendimento -----	46
6.1.4.2.	Teste de caracterização de amido -----	47
6.1.5.	Análises cromatográficas -----	49
6.1.5.1.	Definição do melhor sistema cromatográfico -----	49
6.1.5.2.	Preparo das amostras para análise cromatográfica comparativa -----	49
6.1.5.3.	Análise cromatográfica comparativa -----	49
6.1.6.	Determinação do índice de espuma (IE) -----	51
6.1.7.	Dosagem de fenóis totais -----	53
6.2.	ANÁLISE DO POTENCIAL DE INTERFERÊNCIA <i>in vitro</i> -----	54
6.2.1.	Considerações iniciais -----	54
6.2.2.	Primeira etapa de testes – extrato não tratado em concentração supraterapêutica -----	57
6.2.3.	Segunda etapa de testes – extrato tratado em concentração terapêutica -----	64
6.2.4.	Terceira etapa de testes – extrato não tratado em concentração terapêutica -----	67
6.2.5.	Quarta etapa de testes – extrato tratado em concentração supraterapêutica -----	69
<b>7.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS -----</b>	<b>71</b>
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÃO -----</b>	<b>75</b>



9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	77
10.	ANEXOS -----	87

## RESUMO

**Palavras-chave:** berinjela, *Solanum melongena*, extrato seco, interferência em testes laboratoriais, reação de Trinder.

Produtos com berinjela vêm sendo usados pela população para reduzir o colesterol. Estudos em animais indicaram significativa redução do colesterol total ou do LDL, porém em humanos os resultados não têm sido conclusivos. Dada a presença de antocianinas, de comprovada atividade antioxidante, seria possível que estas substâncias interferissem em testes laboratoriais. O objetivo deste estudo foi comparar produtos à base de berinjela e avaliar o potencial de interferência *in vitro* nas determinações de glicose, colesterol, triglicérides, ácido úrico e AST de um dos produtos. Foram analisados produtos de diferentes marcas, que diferiram quanto à forma farmacêutica, conteúdo, posologia, solubilidade, perfil cromatográfico, índice de espuma e teor de fenóis. Nos produtos com extrato seco, o resíduo insolúvel foi superior a 80%, sendo detectada a presença de amido. Para a análise de interferência, escolheu-se um dos produtos com extrato seco, o qual apresentou maior teor de fenóis totais. O extrato foi adicionado ao soro calibrador patológico comercial, inicialmente em concentrações supraterapêuticas, conforme protocolo internacional, e depois em concentrações terapêuticas para os analitos que apresentaram interferência estatisticamente significativa. Como controles foram preparadas amostras de soro adicionadas de amido, quercetina e solvente. No soro com extrato em concentrações supraterapêuticas foram detectadas interferências estatisticamente significativas nas determinações de glicose, triglicérides e AST e, em concentrações terapêuticas, para glicose. Noutra etapa, os testes foram feitos com o extrato seco que foi submetido à simulação de digestão gástrica, também nas duas concentrações, comparando-se com soro puro e controles. Detectou-se na concentração supraterapêutica interferência em todos os analitos e em concentração terapêutica, apenas para a glicose. Em todas as etapas, alguns controles também apresentaram interferências, sugerindo que a detectada para o extrato poderia ter sido produzida por excipientes ou pelo solvente. Os resultados sugerem que extratos de berinjela apresentam potencial de interferência analítica, porém é necessário estudos *ex vivo*, com diferentes preparações, para uma conclusão definitiva.

## ABSTRACT

**Key-words:** eggplant, *Solanum melongena*, dry extract, laboratorial tests interference, Trinder's reaction.

Products with eggplant as a principal element have been used by the population to reduce cholesterol. Studies in animal's models have indicated significant total cholesterol or LDL reduction, however in humans the results have not been conclusive. Due to the presence of anthocyanins, with confirmed antioxidant activity, it would be possible that these substances interfered in laboratorial tests. The objective of this study was to compare products with eggplant and evaluate the *in vitro* interference potential in the determinations of glucose, cholesterol, triglycerids, uric acid and AST from one of the products. Different mark samples have been analyzed, which differed on the pharmaceutical form, contents, posology, solubility, cromatografic profile, foaming index and total phenolic purport. In all the dry extracts, the insoluble residue was superior than 80 %, and the presence of starch was detected. To the interference analysis, the commercial product with dry extract was selected, which exposed a higher total phenolic purport. The extract was added directly to a commercial pathologic control serum, initially with a suprathapeutic concentration, according to the international protocol, and then in therapeutic concentrations for the analytes that presented significant statistic interference. As controls, serum samples with starch, quercetin and solvent were prepared. In the serum with extract in suprathapeutic concentration, significant statistic interferences on glucose, triglycerids and AST determinations were detected, and interference on glucose, in therapeutic concentrations. In another stage, the test have been made with dry extract that was submitted to a gastric digestion simulation, also in supra and therapeutic concentrations, comparing it with pure serum and controls. Interference was detected in suprathapeutic concentration in all analytes and in therapeutic concentration, only on glucose. In all the stages, some controls have also presented interference, suggesting that the interference detected for the extract, could have been produced by excipients or by solvent. The results suggest that eggplant extracts have an analytical interference potential in laboratorial tests, yet *ex vivo* studies are necessary, with different preparations for a definitive conclusion.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Representação gráfica da <i>Solanum melongena</i> L. -----	5
FIGURA 2 – Estrutura química da nasunina e do ácido <i>p</i> -cumárico -----	7
FIGURA 3 – Estrutura da apigenina, miricetina, quercetina e delphinidina -----	14
FIGURA 4 – Núcleo fundamental dos flavonóides -----	20
FIGURA 5 – Comparação macroscópica de amostras comerciais à base de berinjela -----	46
FIGURA 6 – Percentual de extrato solúvel e resíduo insolúvel de amostras de extrato seco à base de berinjela-----	47
FIGURA 7 A – Resíduo insolúvel após extração com água/metanol (1:1) -----	48
FIGURA 7 B – Teste com iodo para detecção de amido dos resíduos insolúveis-----	48
FIGURA 8 – CCD de amostras comerciais de berinjela-----	50
FIGURA 9 A – CCD de extrato de amostras comerciais de berinjela antes da revelação com vanilina-sulfúrica -----	50
FIGURA 9 B – CCD de extrato de amostras comerciais de berinjela após revelação com vanilina-sulfúrica -----	50
FIGURA 10 – Índice de espuma obtidos nas amostras comerciais de berinjela ---	52
FIGURA 11 – Concentração média de fenóis totais em amostras comerciais de berinjela. -----	53
FIGURA 12 – Gráfico dos resultados da primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	58
FIGURA 13 – Gráfico dos resultados da segunda etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	65

FIGURA 14 – Gráfico dos resultados da terceira etapa dos testes de interferência *in vitro*----- 68

FIGURA 15 – Gráfico dos resultados da quarta etapa dos testes de interferência *in vitro*----- 70

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1- Resultados do teste de quantificação de resíduo insolúvel e extrato solúvel em amostras comerciais de berinjela -----	88
TABELA 2 – Índice de espuma obtido em amostras comerciais de berinjela -----	88
TABELA 3 – Análise estatística pelo teste ANOVA dos resultados de glicose na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	58
TABELA 4 – Análise estatística pelo teste de Scheffé dos resultados do teste de glicose na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	58
TABELA 5 – Análise estatística pelo teste ANOVA dos resultados de colesterol na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	60
TABELA 6 – Análise estatística pelo teste de Scheffé dos resultados do teste de colesterol na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	60
TABELA 7 – Análise estatística pelo teste ANOVA dos resultados de ácido úrico na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	61
TABELA 8 – Análise estatística pelo teste de Scheffé dos resultados do teste de ácido úrico na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	61
TABELA 9 – Análise estatística pelo teste ANOVA dos resultados de aspartato-aminotransferase na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	63
TABELA 10 – Análise estatística pelo teste de Scheffé dos resultados do teste de aspartato-aminotransferase na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	63
TABELA 11 – Análise estatística pelo teste ANOVA dos resultados de triglicerídeos na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	64
TABELA 12 – Análise estatística pelo teste de Scheffé dos resultados do teste de triglicerídeos na primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	64

TABELA 13 – Comparação dos resultados encontrados no teste <i>t</i> na segunda etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	65
TABELA 14 – Análise estatística pelo teste ANOVA dos resultados de glicose na segunda etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	68
TABELA 15 – Análise estatística pelo teste de Scheffé dos resultados do teste de glicose na segunda etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	68
TABELA 16 – Comparação dos resultados encontrados no teste <i>t</i> na quarta etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> -----	70

**LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1- Concentração de elementos químicos e aminoácidos na berinjela -	10
QUADRO 2 – Núcleo flavílio e principais antocianidinas -----	26
QUADRO 3 – Síntese da evolução na padronização de estudos e interferência de fármacos em exames -----	29
QUADRO 4 – Informações contidas nas embalagens de produtos à base de berinjela -----	45
QUADRO 5 – Esquema das reações químicas para doseamento de colesterol, glicose, ácido úrico, triglicerídeos e aspartato-aminotransferase -----	87
QUADRO 6 – Curva de calibração de fenóis totais e concentração de fenóis totais em amostras comerciais de berinjela -----	89
QUADRO 7 – Resultados da primeira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> --	90
QUADRO 8 – Resultados da segunda etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> --	91
QUADRO 9 – Resultados da terceira etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> ----	92
QUADRO 10 – Resultados da quarta etapa dos testes de interferência <i>in vitro</i> ----	92



## LISTA DE ABREVIATURAS

ES1a: Produto à base de extrato seco de berinjela marca 1 lote a

ES1b: Produto à base de extrato seco de berinjela marca 1 lote b

ES2: Produto à base de extrato seco de berinjela marca 2

ES3: Produto à base de extrato seco de berinjela e alcachofra marca 3

ES4: Produto à base de extrato seco de berinjela marca 4

BP: Produto à base de berinjela pulverizada marca 5

BF: Berinjela fresca

EFC: Extrato fluido comercial à base de berinjela

SE<sub>st</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de extrato seco em dose supraterapêutica estimada.

SQ<sub>st</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de quercetina em dose supraterapêutica estimada.

CQ<sub>st</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de etanol/salina (controle para o SQ) utilizado nos testes com dose supraterapêutica estimada do extrato seco.

SA<sub>st</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de amido em dose supraterapêutica estimada.

BA<sub>st</sub>: Branco de amostra.

SET<sub>st</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de extrato seco tratado, em dose supraterapêutica estimada.

SE<sub>t</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de extrato seco em dose terapêutica estimada.

SQ<sub>t</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de quercetina em dose terapêutica estimada.

CQ<sub>t</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de etanol/salina (controle para o SQ) utilizado nos testes com dose terapêutica estimada do extrato seco.

SA<sub>t</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de amido em dose terapêutica estimada.

SET<sub>t</sub>: Soro calibrador comercial em nível patológico acrescentado de extrato seco tratado, em dose terapêutica estimada.

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais, com fins de tratamento e cura de doenças e sintomas, é generalizado e remonta ao início da civilização. Porém é, ainda hoje, mais fundamentado na aplicação de um conhecimento empírico acumulado durante séculos pela coletividade humana que em resultados de pesquisas científicas. Durante muitos anos, pesquisa com plantas medicinais foi subestimada no meio científico, situação esta que, felizmente, vem progressivamente se modificando (DI STASI, 1996).

Além de aspectos tradicionais, diversos outros fatores contribuem para a ampla utilização de plantas pela população. Entre eles, a desilusão com medicamentos convencionais e o desejo de um estilo de vida mais “natural” (NEWALL *et al.*, 1996). Devem igualmente ser considerados a crise econômica e o alto custo dos medicamentos industrializados, sobretudo em países em desenvolvimento (LAPA *et al.*, 2003).

O uso de produtos naturais é também fortemente induzido pela mídia através de propagandas, onde propriedades “milagrosas” de tais produtos são apresentadas muitas vezes sem embasamento científico. Além disso, o comércio intenso em locais públicos e a venda de formas derivadas simples (planta rasurada ou em pó) em farmácias e supermercados facilitam o acesso da população a esses produtos e contribui para seu uso indiscriminado (SIMÕES *et al.*, 1995, LAPA *et al.*, 2003). É o caso de *Solanum melongena* L., da família *Solanaceae*, cujo fruto conhecido como berinjela, é largamente consumido no Brasil, sendo utilizado na medicina popular com finalidade de diminuir o colesterol (GUIMARÃES *et al.*, 2000).

Não há consenso na literatura sobre a dose ou a maneira que a berinjela deve ser utilizada. No mercado existem vários produtos industrializados à base desta planta, como extratos fluidos, cápsulas com extrato seco ou com berinjela pulverizada, associados ou não com extratos de outras plantas. Entre todas, a forma farmacêutica mais encontrada é a de cápsulas com extrato seco, embora o conteúdo em extrato comercial (extrato seco de berinjela e excipientes) das cápsulas e a posologia do produto, variem significativamente de uma marca para outra. Além disso, o custo mensal do tratamento com uma das principais marcas pode atingir mais de R\$ 60,00 (sessenta reais).

Entretanto, poucos são os estudos encontrados na literatura que avaliaram a eficácia terapêutica da berinjela e os poucos encontrados freqüentemente apresentam resultados controversos (item 3.1.3.3 da revisão bibliográfica). Além do mais, nenhum destes avaliou produtos comerciais à base de berinjela.

Segundo JORGE e colaboradores (1998), os tratamentos com berinjela vêm sendo feitos de forma empírica pela população, carecendo de uma metodologia de estudo que permita conclusões mais confiáveis.

Também é preciso considerar que o efeito produzido pelo uso de plantas deve-se às substâncias químicas que estas possuem e que, para que este efeito seja comprovado, tanto ensaios biológicos pré-clínicos, quanto clínicos devem ser utilizados (LAPA *et al.*, 2003; SCHENKEL<sup>1</sup> *et al.*, 2003). Entretanto, para a comprovação do efeito hipocolesterolêmico de uma planta nos ensaios biológicos é indispensável a realização de análises laboratoriais.

Em princípio, muitos exames laboratoriais são determinações químicas, que dependendo do método empregado, podem sofrer interferência, em maior ou menor grau, de um número bastante grande de substâncias que, estando presentes no meio reacional junto com a substância de interesse, reagem interferindo na determinação (LETELLIER & DESJARLAIS, 1985; RAVEL, 1995). Esta interferência, bastante estudada em relação a fármacos sintéticos ou semi-sintéticos é muito pouco estudada em relação às plantas medicinais ou

alimentos especiais. Tais interferências poderiam levar a conclusões errôneas quanto a possíveis efeitos biológicos das substâncias ou extratos testados.

Além disso, deve ser também considerado que embora seja comum o laboratório inquirir os pacientes quanto ao uso de medicamentos antes da coleta do material biológico para exames, o mesmo não ocorre em relação ao uso de suplementos alimentares e plantas medicinais, os quais podem não ser considerados como medicamentos por parte dos pacientes. Esse fato pode dificultar a compreensão de resultados não conformes produzidos por interferência destes produtos em testes laboratoriais.

A casca da berinjela contém flavonóides, cuja potente atividade antioxidante *in vivo* já foi comprovada por trabalhos como o de SUDHEESH e colaboradores (1999), porém não se encontram na literatura relatos de avaliação de seu efeito como interferente em exames laboratoriais que utilizam reações de óxido-redução.

Apesar disso, há evidências de que substâncias presentes na berinjela inibem determinadas enzimas. KANAMORI e colaboradores (1975) relataram a presença de inibidores de proteinases (de tripsina e pronases) extraídos da casca da berinjela. LIN e colaboradores (2002) descreveram efeitos de inibição enzimática, produzidos por flavonóides sobre a atividade da enzima xantina-oxidase, o que sugere que os flavonóides possam também inibir outras enzimas (inclusive, outras oxidases, como por exemplo, a glicose-oxidase ou as peroxidases, amplamente utilizadas em análises clínicas).

Considerando o exposto acima, é importante avaliar o potencial de interferência *in vitro* de extratos de berinjela, já que pela atividade antioxidante comprovada para substâncias presentes nesta planta, seria possível que os mesmos provocassem “falsa diminuição” sérica de determinados analitos, inclusive do próprio colesterol, quando estes são dosados por métodos que utilizam as reações de óxido-redução, tais como a reação de TRINDER (1969).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Realizar uma análise comparativa de produtos à base de berinjela mais freqüentemente encontrados no mercado, e para um produto selecionado, avaliar o potencial de interferência em exames laboratoriais *in vitro*.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Comparar produtos à base de berinjela em relação aos dados apresentados pelos fabricantes nas embalagens, aparência macroscópica do pó, solubilidade, perfil cromatográfico, índice de espuma e dosagem de fenóis totais.
- Para um produto selecionado, avaliar o potencial de interferência *in vitro* em testes laboratoriais que envolvam reação de óxido-redução (reação de TRINDER) ou atividade enzimática, ou seja, nas reações de determinação de colesterol total, glicose, ácido úrico, triglicerídeos e aspartato-aminotransferase (AST), realizados com soro calibrador comercial patológico.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. BERINJELA

##### 3.1.1. Aspectos botânicos

Berinjela (figura 1) é o nome popular da planta, conhecida cientificamente por *Solanum melongena*, L.. É uma planta arbustiva, vigorosa e apresenta ampla formação de ramos laterais, possui caule semilenhoso, ereto, resistente, alcançando entre 1,0 e 1,8 metros de altura. Seu sistema radicular pode atingir um metro de profundidade ou mais, embora as raízes se concentrem mais superficialmente (FILGUEIRA, 2000).



**FIGURA 1:** Representação de frutos, folhas e flores de *Solanum melongena* L.

O fruto de *S. melongena* constitui-se em uma baga carnosa de formato ovalado ou oblongo e ligeiramente alongado, podendo possuir cor variada, usualmente escura. As folhas são grandes e aveludadas e as flores são hermafroditas e possuem coloração arroxeada. No Brasil predominam cultivares

de cor roxo-escuro, quase negros, brilhantes e com cálices verdes (CALBO, 2001 e FILGUEIRA, 2000), mas em outros países existem também cultivares com frutos verdes e brancos (FLICK *et al.*, 1975). Estes devem ser colhidos assim que atingem o tamanho normal de crescimento, cerca de 150 mm, botanicamente imaturos, com as sementes ainda tenras, devem possuir um aspecto colorido e brilhante e ter a poupa macia e firme (FILGUEIRA, 2000).

O cultivo desta planta é antiqüíssimo, sua origem provavelmente é a Índia, Birmânia e ou China, tendo sido introduzida pelos árabes na Europa durante a Idade Média e provavelmente pelos espanhóis no Novo Mundo. Hoje é ainda muito cultivada na China e também em outros países de clima quente e úmido (FILGUEIRA, 2000).

### **3.1.2. Constituintes da berinjela**

#### **3.1.2.1. Composição geral**

Segundo a tabela brasileira de composição de alimentos da Universidade de São Paulo (FCF/USP, 2001), a composição centesimal da berinjela crua é de: 93,96 g de água; 2,51 g de fibras totais (sendo 1,60 g de fibras insolúveis e 0,91 g de fibras solúveis); 4,71 g de carboidratos totais; 0,79 g de proteínas; 0,39 g de cinzas e 0,15 g de lipídeos; correspondendo a um total de 13 Kcal de energia.

Já JORGE e colaboradores (1998), que também analisaram a composição de um preparado à base de berinjela constituído de 100 g de berinjela e 70 mL de água, tiveram resultados um pouco diferentes. Estes autores obtiveram os seguintes resultados em g/100 g: 0,74 de proteínas; 2,72 de carboidratos; 0,40 de fibras; 0,34 de lipídios totais; 0,26 de cinzas e 17 calorias.

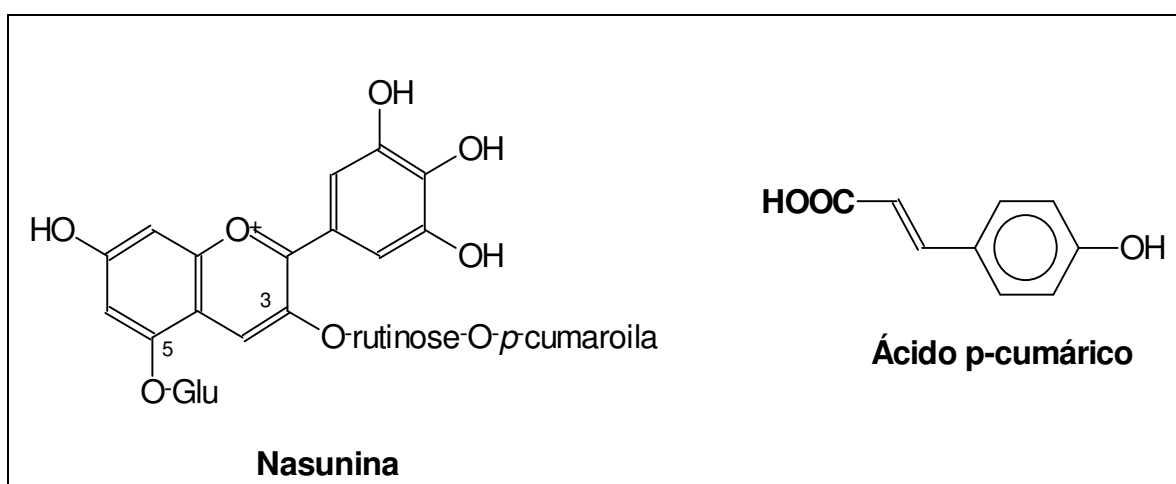
#### **3.1.2.2. Substâncias fenólicas**

SUDHESSH e colaboradores (1999) determinaram a concentração em flavonóides totais da *Solanum melongena* como 420 mg%. Conforme estudo



realizado por CHEREM (2002), o teor de pigmentos antociânicos quantificados em 100 g de casca de berinjela desidratada foi de 382,01 mg.

Segundo NODA e colaboradores (2000), a nasunina é o principal flavonóide da berinjela. Trata-se de um heterosídeo flavonoídico do tipo antocianina, derivado da delphinidina (aglicona), que foi inicialmente isolado da casca da *S. melongena* por KURODA & WADA (1933) e mais tarde, identificado por SAKAMURA e colaboradores (1963) como delphinidina-3-(*p*-cumaroilrutinosídeo)-5-glicosídeo (figura 2).



**FIGURA 2:** Estrutura da nasunina, principal antocianina da berinjela e do ácido *p*-cumárico, um dos constituintes parciais da estrutura da nasunina (NODA *et al.*, 2000).

É a nasunina que confere a cor púrpura intensa à casca da berinjela (NODA *et al.*, 2000), sendo interessante observar que esta fruta é conhecida no Japão pelo nome de “Nasu” (CORREA, 1926).

### 3.1.2.3. Enzimas

A berinjela também possui entre seus constituintes algumas enzimas. Em 1975, FLUCK & JAFFE caracterizaram um tipo de colinesterase em extratos de berinjela púrpura.

FLICK e colaboradores (1975 e 1978) estudaram a composição e propriedades bioquímicas de três variedades de berinjela (púrpura, verde e

branca), inclusive com relação às enzimas, as quais podem catalisar mudanças bioquímicas no vegetal durante sua estocagem e eventual processamento.

No primeiro trabalho de FLICK e colaboradores (1975), foi comparada a atividade de um tipo de lipoxigenase, enzima que catalisa uma peroxidação lipídica, ou seja, a oxidação de ácidos graxos insaturados (e seus ésteres) em seus respectivos hidroperóxidos. A atividade desta enzima é considerada a primeira causa de deterioração e perda da qualidade de vegetais coloridos. A maior atividade ocorreu na variedade púrpura.

Mais tarde, num segundo trabalho (1978), os autores compararam também a atividade de polifenol-oxidase, catalase, álcool desidrogenase, peroxidases e algumas fosfatases. Estas enzimas são responsáveis, respectivamente, pela oxidação de fenóis, decomposição do peróxido de hidrogênio (tóxicos para as células da planta), conversão dos produtos aldeídicos da atividade da lipoxigenase em álcoois, oxidação de vários substratos (indicador de resistência a doenças e lesões) e hidrólise de ésteres de fosfato ligados a lipídeos, açúcares ou ácidos nucléicos (metabolismo de carboidratos nos tecidos vegetais).

Este último estudo concluiu que a variedade púrpura apresentou a melhor atividade em relação às enzimas polifenol-oxidase, lipoxigenase e fosfatases; para a catalase, sua atividade foi só ligeiramente menor que a da variedade verde. A atividade enzimática da variedade púrpura foi inferior às demais para peroxidase e álcool-dehidrogenase.

Em 2001, PEREZ-GILABERT e colaboradores purificaram uma nova lipoxigenase da casca (membrana) da berinjela e seus resultados mostraram que esta enzima localizava-se no cloroplasto do fruto e não no estroma. A presença de lipoxigenases (e de alguns de seus metabólitos), sua capacidade de oxidar o ácido linoleico, os produtos formados e a cinética da enzima, foram também estudados por SREDNI & GROSSMAN (1980), NAKAYAMA e colaboradores (1995) e LOPEZ-NICOLAS e colaboradores (2001).

Em 1980, SHARMA & ALI isolaram e caracterizaram uma catecol-oxidase em frutos de *S. melongena*. Esta enzima catalisa a oxidação aeróbica de vários mono- e di-fenóis para a produção de pigmentos. A presença e a atividade da enzima polifenol-oxidase em frutos de *S. melongena* foi também estudada por SHATTA & EL-SHAMEI (1999). Estes compararam também a atividade de três fenóis-oxidases encontradas na berinjela: a polifenol-oxidase, a lacase e a peroxidase. A maior atividade foi obtida com a peroxidase, seguida da polifenol - oxidase e da lacase.

PACZKOWSKI e colaboradores (1997) constataram a presença de enzimas do tipo glicosil transferases, responsáveis pela produção de saponinas esteroidais derivadas da diosgenina e solasodina e glicoalcalóides esteroidais em folhas, raízes, caules, frutos verdes e maduros de *S. melongena*. Estas substâncias foram encontradas em todas as partes estudadas da planta, porém nos frutos maduros, a maior concentração apareceu nas sementes.

#### **3.1.2.4. Alcalóides**

Em 1990 KEELER e colaboradores estudaram a composição de extratos purificados de alcalóides obtidos de frutos das espécies de *Solanum*, não tendo sido detectados na fração de alcalóides totais não hidrolisados de *Solanum melongena* solasodina livre, outras espirosolonas, nem qualquer aglicona de alcalóide esteroidal não-espirosolona. Todos os alcalóides detectados nesta fração estavam na forma de glicosídeos. Na análise da fração hidrolisada, solasodina e solanidina foram as únicas agliconas dos alcalóides glicosídicos detectadas.

ASANO e colaboradores (1997) verificaram a presença de alcalóides nortropanos poli-hidroxilados chamados calisteginas, em frutos comestíveis e vegetais, inclusive na berinjela. Estas substâncias foram isoladas tanto de folhas, como de frutos de *S. melongena*.

### 3.1.2.5. Outros constituintes

FLICK e colaboradores (1978) determinaram em três variedades de berinjela o teor de elementos químicos, como cálcio, alumínio, cloro, cobre, ferro, entre outros, assim como, seu teor de aminoácidos, como arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina e outros. Os resultados obtidos com a variedade púrpura da berinjela são apresentados no Quadro 1. Os mesmos autores, também relataram para a fruta fresca grande quantidade de líquidos (93,6%) e baixa de sólidos (6,4%). Estes autores também observaram que do total de sólidos, somente 2% poderiam ser substâncias protéicas (dado obtido pela determinação de nitrogênio na amostra) e que somente 0,9% eram compostos extraíveis pelo éter, enquanto que o restante era fibras cruas (10,8%) ou outros resíduos (4,6%).

**QUADRO 1:** Concentração em elementos químicos e aminoácidos na variedade púrpura de berinjela (adaptado de FLICK *et al.*, 1978).

Elemento químico	Concentração* (ppm)	Aminoácidos	Concentração* (mg/g)
Alumínio	123,0	lisina	0,769
Cálcio	1450,1	histidina	0,475
Cloro	2060,0	amônia	0,558
Cobre	21,8	arginina	1,206
Ferro	164,0	ácido aspártico	3,274
Potássio	17390,0	treonina	0,776
Magnésio	1690,0	serina	0,815
Manganês	11,7	ácido glutâmico	3,582
Sódio	306,0	prolina	0,784
Enxofre	3800,0	glicina	0,776
Selênio	2,0	alanina	0,995
Vanádio	1,0	valina	1,212
Zinco	6,1	isoleucina	0,722
		leucina	1,266
		tirosina	0,419
		fenilalanina	0,869

\* Considerado com base no peso da fruta seca.

FELDMAN (1983) investigou o conteúdo em histamina de certos alimentos, inclusive o da berinjela assada, e o efeito da ingestão destes alimentos na eliminação de histamina urinária em humanos. O autor concluiu

que alguns alimentos, entre eles, a berinjela, têm um alto conteúdo de histamina. No caso da berinjela, o conteúdo detectado foi de 26 µg/g. Segundo o autor, apesar de somente 0,21% da histamina ingerida ser eliminada em sua forma inalterada na urina, a ingestão destes alimentos pode causar histaminúria, a semelhança do que ocorre em pacientes com mastocitose sistêmica ou síndromes carcinóides. Pacientes que precisam colher urina de 24 horas para a avaliação da excreção de histamina devem evitar ingerir estes alimentos no dia da coleta.

### **3.1.3. Atividades biológicas investigadas para a berinjela**

#### **3.1.3.1. Antioxidante**

CAO e colaboradores (1996), avaliaram a atividade antioxidante de extratos obtidos de frutas e vegetais (inclusive da berinjela) e de alguns chás utilizando o ensaio automatizado “Capacidade de Absorbância de Radicais do Oxigênio (ORAC)”, com três diferentes espécies reativas: um gerador de radical peroxila ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ), um gerador de radical hidroxila ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) e um íon ( $\text{Cu}^{+2}$ ). Os testes foram realizados com extratos obtidos a partir da fruta fresca (extrato aquoso e extrato obtido por extração com acetona) e com a fruta seca em estufa a 40 °C por uma semana. As amostras frescas apresentaram maior atividade antioxidante que as secas. Os autores concluíram que espécies vegetais têm potente ação antioxidante e que misturas de antioxidantes naturais podem apresentar melhor atividade que antioxidantes utilizados isoladamente.

Já AZUMA e colaboradores (1999) testaram o efeito antioxidante de extratos de berinjela e de outros vegetais na inibição da peroxidação do ácido linoléico induzida por AAPH (dicloridrato de 2,2'-diazó(2-amidinopropano), um gerador de radicais livres e na oxidação de membranas fosfolipídicas utilizando uma suspensão lipossomal na ausência e na presença de DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético, quelante de íons metálicos. Foram utilizadas frações etanólicas, aquosas e solúveis em ácido metafosfórico, obtidas a partir da planta fresca. Todas as frações da berinjela apresentaram significativo efeito

antioxidante em todos os testes, indicando que seu efeito não ocorre somente por quelação de íons metálicos, mas também por seqüestro do radical peroxila.

IGARASHI e colaboradores (1993) isolaram a nasunina de uma variedade de berinjela (*Solanum melongena Chouja*) e testaram seu efeito antioxidante na inibição da peroxidação produzida por uma lipoxigenase sobre o ácido linolêico. Estes autores também compararam os efeitos da nasunina com o de outras antocianinas, tais como: malvina e rubrobrassicina e concluíram que a nasunina mostrou o maior efeito antioxidante. Seu efeito também foi maior que o de sua antocianidina, a delfinidina, sugerindo que a presença do ácido *p*-cumárico (um de seus substituintes estruturais), ao menos parcialmente, contribui para sua potente atividade antioxidante.

KANEYUKI e colaboradores (1999) testaram a capacidade de seqüestro de radicais livres de extratos aquosos liofilizados reconstituídos de 16 vegetais, inclusive da berinjela, em diferentes ensaios, utilizando diferentes geradores de radicais livres. Entre os extratos testados um obtido da epiderme da berinjela apresentou os melhores resultados em relação tanto ao seqüestro do radical hidroxila como do ânion superóxido. Sua atividade não diminuiu após tratamento com ascorbato oxidase, mas diminuiu após ultrafiltração do extrato, o que sugere que sua ação não se deve à presença de ácido ascórbico, mas sim à de substâncias de maior massa molecular.

Segundo NODA e colaboradores (2000), a nasunina demonstrou grande atividade seqüestradora do ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), além da inibição da geração de radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), possivelmente por quelar íons ferro. Além disso, nasunina também protegeu contra a peroxidação lipídica induzida por peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ).

SUDHEESH e colaboradores (1999) analisaram e demonstraram potente atividade antioxidante *in vivo* dos flavonóides da berinjela através da diminuição dos níveis de peroxidação lipídica (demonstrados pela diminuição de malondialdeído, hidroperóxidos e dienos conjugados detectados em tecidos), e aumento da concentração de glutathiona e da atividade da enzima catalase em

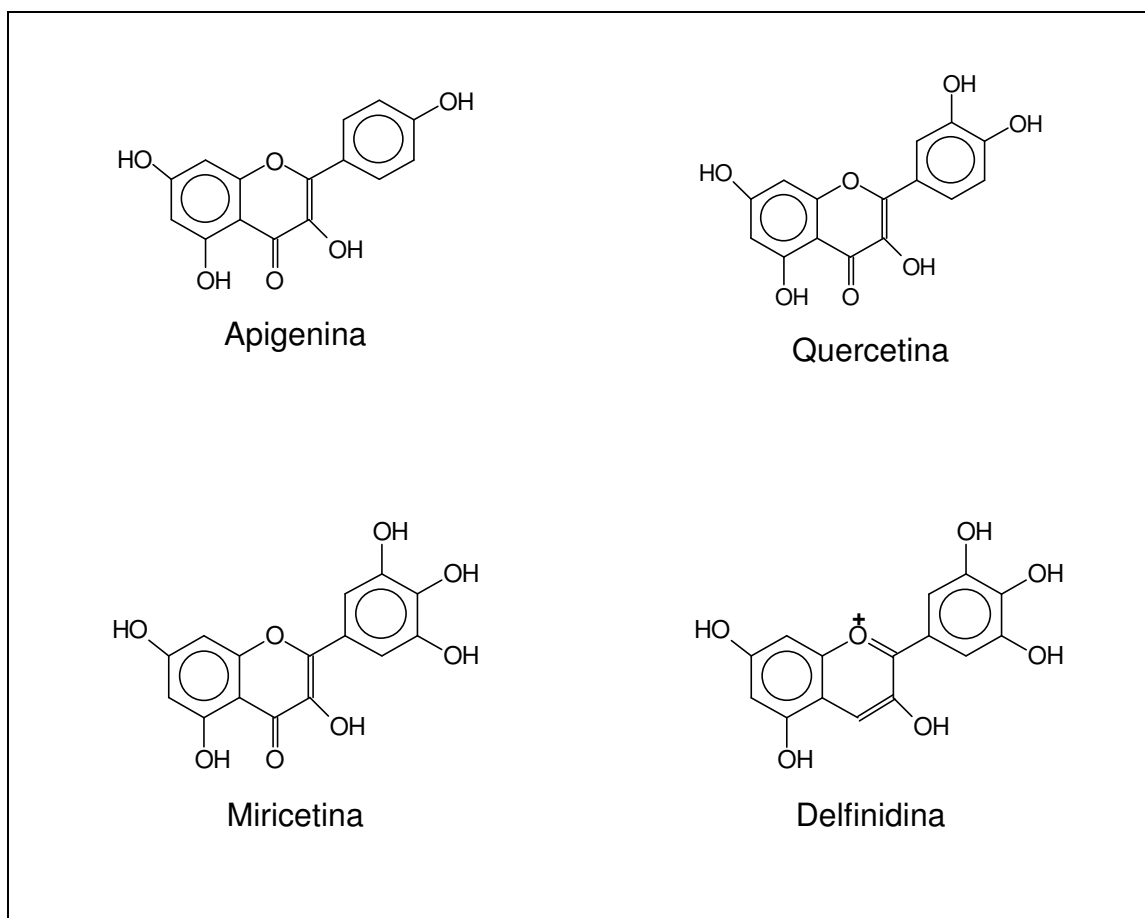
ratos que receberam por via oral flavonóides extraídos da berinjela na dose de 1 mg/100 g/dia. Os autores sugeriram que uma dieta contendo estes flavonóides em quantidades moderadas poderia ajudar a reduzir o risco de doença cardiovascular.

### 3.1.3.2. Inibição de enzimas

Em 1975, KANAMORI e colaboradores isolaram e purificaram parcialmente de extratos de berinjela uma proteína que mostrou atividade inibitória sobre várias proteinases, tais como a tripsina e a pronase. Num estudo posterior, KANAMORI e colaboradores (1976) confirmaram a forte inibição deste composto sobre a tripsina e sua fraca atividade sobre a  $\alpha$ -quimotripsina, porém o composto não se mostrou ativo contra a pepsina. Esses inibidores foram também estudados em frutos de *S. melongena* por YAMADA e colaboradores (1976), IBUKI e colaboradores (1977), KAGA (1979) e IBUKI e colaboradores (1980), com resultados semelhantes.

CHIANG & CHEN (1993) isolaram de raízes de *S. melongena* os fitoesteróides estigmasterol, estigmasterol- $\beta$ -D-glicosídeo,  $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D-glicosídeo, dioscina, protodioscina e meprotodioscina. Neste estudo, a atividade destes compostos na inibição da enzima xantina-oxidase foi testada e confirmada. Não foram encontrados trabalhos relatando a presença dessas substâncias em frutos de berinjela, porém LIN e colaboradores (2002) estudaram a capacidade inibitória de diversos tipos de flavonóides, comumente encontrados em plantas e estruturalmente semelhantes aos encontrados na berinjela, contra a enzima xantina-oxidase. Esta enzima, em humanos, catalisa a oxidação da hipoxantina e xantina em ácido úrico, produzindo radical superóxido e aumentando o nível oxidativo do organismo. Segundo os autores, o excesso de atividade desta enzima causa a gota e é responsável por danos de caráter oxidativo nos tecidos. Dos flavonóides testados, o que apresentou melhor atividade inibitória foi a apigenina, seguido da quercetina e da miricetina. Como pode ser visto na figura 3, estes compostos não diferem muito estruturalmente da delphinidina (aglicona da nasunina), principal flavonóide da berinjela.

ASANO e colaboradores (1997) isolaram de frutos de *S. melongena* alcalóides conhecidos como calisteginas do tipo B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, e testaram *in vitro* seus efeitos inibitórios sobre enzimas do tipo glicosidase. Ambos os compostos demonstraram potente atividade inibitória competitiva contra as enzimas, o que segundo os autores, sugere que a berinjela, caso ingerida em grande quantidade, pode ser tóxica.  $\alpha$ -Galactosidase,  $\beta$ -glicosidases e  $\beta$ -xilosidase são enzimas presentes no fígado de mamíferos, inclusive no humano, e sua inibição pode levar ao desenvolvimento do fenótipo de doenças específicas (dependendo do tipo da glicosidase inibida) relacionadas à capacidade lisossomal de armazenamento. Segundo estes autores, as concentrações dessas substâncias encontradas na berinjela (e em outros vegetais) são relativamente baixas, contudo por serem potentes inibidores, existe a possibilidade de efeitos tóxicos ocorrerem em humanos pela ingestão de grande quantidade de plantas que contem estes compostos.



**FIGURA 3:** Estruturas químicas dos flavonóides apigenina, quercetina, miricetina e delfinidina.



### 3.1.3.3. Alterações dos níveis lipídicos

Já em 1970, efeitos da berinjela sobre os níveis lipídicos eram estudados, como pode ser visto no trabalho de MITSCHEK (1970). Neste trabalho, *Solanum melongena* teve resultados significativos na redução dos níveis de colesterol. O autor testou estes efeitos injetando, por via subcutânea em coelhos hipercolesterolêmicos, extrato aquoso, obtido com o fruto de *S. melongena*.

Em 1998, JORGE e colaboradores também utilizando coelhos hipercolesterolêmicos obtiveram resultados que indicaram potenciais efeitos benéficos de suco obtido da berinjela sobre os níveis de lipídeos plasmáticos, colesterol tecidual, peroxidação lipídica das LDL (nativa, oxidada e da presente na parede arterial) e no relaxamento dependente de endotélio. Os resultados deste experimento mostraram uma significativa redução no peso corpóreo dos animais tratados, no colesterol total, LDL plasmática, triglicerídeos, colesterol tecidual, peroxidação lipídica das LDL nativas, oxidadas e da parede arterial, assim como um aumento no relaxamento dependente de endotélio.

Em outro modelo, KRITCHEVSKY e colaboradores (1975) investigaram a influência de uma preparação dietética à base de pó de folhas e frutos de *S. melongena* no metabolismo do colesterol em ratos. Neste estudo, *S. melongena* não diminuiu significativamente os níveis plasmáticos de colesterol dos animais tratados. Os autores sugeriram que o efeito relatado por outros pesquisadores em coelhos poderia estar relacionado com a inibição da absorção do colesterol da dieta, por algum mecanismo de ligação aos sais biliares responsáveis por esta absorção.

SILVA (2001) também não observou reduções nos níveis de colesterol total, de suas frações (HDL e LDL) e de triglicerídeos em ratos com dieta hipercolesterolêmica. Os animais foram tratados com três tipos de infusões obtidas de berinjela: extração aquosa do fruto fresco a frio por 24 h, decocção do fruto por 15 min e, suspensão a 10% de berinjela previamente seca a 60 °C. Os resultados demonstraram que as reduções observadas, em relação aos grupos controles, não foram significativas.

Já SUDHEESH e colaboradores (1997) estudaram os efeitos da administração oral de flavonóides extraídos da berinjela, em ratos com dieta normal ou suplementada com colesterol, e tiveram resultados diferentes. Os resultados indicaram atividade hipolipidêmica com significativa redução na concentração de triglicerídeos e colesterol no soro e tecidos dos animais tratados, assim como elevação nos níveis de ácidos biliares hepáticos e esteróis neutros fecais. Também a atividade da enzima HMG-CoA redutase (responsável pela síntese endógena de colesterol), da lipase lipoprotéica (remoção do triglicerídeo dos quilomicrons) e da LCAT (lecitina-colesterol-acil-transferase, responsável pela esterificação do colesterol livre dos tecidos para transporte pelas lipoproteínas ao fígado) mostraram-se aumentadas, enquanto que a atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase e da malato desidrogenase (enzimas lipogênicas) mostraram-se significativamente reduzidas. Devido a estes resultados, os autores concluíram que a atividade hipolipemiante provavelmente não se deveu à inibição da colesterologênese, mas ao aumento da eliminação do colesterol pelo fígado ou pela inibição de sua absorção intestinal, este último talvez conseqüência de propriedades de ligação dos flavonóides com ácidos biliares e esteróis. Este processo, por reduzir a absorção do colesterol, deve estimular a colesterologênese. Entretanto, este colesterol endogenamente sintetizado, por ser o substrato preferido para síntese de ácidos biliares é degradado e eliminado como esteróis fecais e ácidos biliares.

De forma semelhante, KAYAMORI & IGARASHI (1994) testaram os efeitos da nasunina (principal antocianina da berinjela) e de sua aglicona (delfinidina) na diminuição dos níveis de colesterol em ratos alimentados com dieta rica em colesterol. Seus resultados indicaram diminuição significativa nos níveis de colesterol e aumento nos níveis de HDL-colesterol com ambos os compostos testados.

Um experimento utilizando cobaias foi realizado por CHEREM (2002). Neste, foi observada a atividade de dieta suplementada com casca de berinjela (1,57 g/dia, que fornece 6 mg de pigmentos antociânicos/dia/animal) sobre a concentração plasmática de colesterol total, triglicerídeos e frações lipídicas, em

animais hipercolesterolêmicos e normais. Concluiu-se que a suplementação com casca de berinjela reduziu significativamente o colesterol total, o LDL e o HDL nos animais hipercolesterolêmicos, mas o mesmo não ocorreu com os triglicerídeos e VLDL destes animais. Também não houve redução estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros, no grupo dos animais normais.

Quanto a estudos em humanos, apenas dois trabalhos foram encontrados. No primeiro, KAKUDA e colaboradores (1997) avaliaram a influência do uso de suco de berinjela associado ao suco de laranja na modificação do perfil lipídico e nos níveis de fibrinogênio de 19 indivíduos saudáveis. As amostras foram colhidas antes e após três semanas da ingestão diária de 200 mL de suco de berinjela sem casca associado ao suco de laranja. Porém, os níveis lipídicos e de fibrinogênio não se alteraram significativamente neste experimento.

No segundo, GUIMARÃES e colaboradores (2000) avaliaram os efeitos sobre os níveis de colesterol total e frações (HDL, LDL e VLDL), triglicerídeos e apolipoproteínas A e B em 38 indivíduos hipercolesterolêmicos, antes e após três e cinco semanas de uso de 500 mL de infusão preparada a partir de pó de berinjela desidratada ou de um placebo, em duas administrações ao dia. O experimento mostrou que a infusão teve um modesto e transitório efeito sobre os níveis de colesterol total, LDL e apolipoproteína B, porém estes efeitos não foram significativamente diferentes daqueles obtidos com os pacientes que seguiram orientação padronizada para dislipidemias (dieta adequada e exercícios físicos).

#### **3.1.3.4. Outras atividades**

Em 1992, YAMAZAKI & NISHIMURA analisaram os efeitos do uso de suco de berinjela (e de outros vegetais) na estimulação do sistema imune de camundongos para a produção do fator de necrose tumoral (TNF) e conseqüente estimulação do processo de defesa do organismo. Os efeitos foram significativos somente com o uso de altas doses do suco de berinjela.

A atividade antimutagênica do suco de berinjela foi estudada por EDENHARDER e colaboradores (1994), tendo demonstrado fraca atividade. Já YOSHIKAWA e colaboradores (1996) isolaram e testaram o efeito antimutagênico de alguns constituintes de extratos da berinjela japonesa, concluindo que a feofitina A e B, derivadas da clorofila A e B (presentes em extratos obtidos com éter de petróleo), poderiam ser responsáveis pela atividade antimutagênica desta planta.

NAGASE e colaboradores (1998) estudaram (e demonstraram) efeito antitumoral de extrato de berinjela na inibição da invasão de membrana Matrigel (MG) por células de fibrocarcinoma humano HT-1080. O componente do extrato responsável pela ação antitumoral foi isolado e caracterizado como sendo a delfinidina.

Em 2001, LEE e colaboradores estudaram o efeito de extratos aquosos de *S. melongena* na inibição da reação anafilática em modelo de estimulação imunológico e não imunológico. Segundo estes autores, o extrato de berinjela inibiu significativamente a reação anafilática em ambos os modelos e demonstrou ter um efeito inibitório sobre a secreção de TNF- $\alpha$  em mastócitos peritoniais de ratos.

#### **3.1.4. Preparações à base de berinjela**

A berinjela vem sendo utilizada para fins terapêuticos das mais variadas maneiras. Esta ausência de consenso sobre uma forma única de utilização da berinjela pode ser vista em JORGE e colaboradores (1998) e SILVA (2001), que utilizaram em seus trabalhos diferentes preparações à base de berinjela com base no uso popular de suas regiões. Porém, dentre as formas farmacêuticas comerciais disponíveis, as mais encontradas são as cápsulas com extrato seco.

Extratos compreendem produtos fitoterápicos obtidos através de várias metodologias de extração ou dissolução, após o emprego de misturas solventes adequadas, em qualquer relação de concentração entre a matéria prima vegetal e o meio líquido, com o objetivo de retirar, com maior ou menor especificidade, determinados componentes (SONAGLIO *et al.*, 2003).

Já extratos secos, são obtidos pela eliminação total da fase líquida utilizada no processo de extração através de operação de secagem em pressão atmosférica reduzida, por liofilização ou ainda por incorporação em solução extrativa em matriz sólida, com posterior secagem. Devem apresentar umidade residual máxima de 5% (DEUTSCHES, 1991).

Além de extratos secos podem ser encontrados no comércio produtos à base de berinjela com planta pulverizada e extratos fluídos. Os pós são um tipo de forma farmacêutica constituída de partículas sólidas de granulometria definida, obtida a partir da planta seca moída ou triturada. Já os extratos fluídos são preparações líquidas, normalmente hidroetanólicas, preparadas a partir de outros extratos ou de plantas frescas ou secas, submetidas à maceração em mistura etanol-água. O extrato fluido deve conter 1 g de matéria-prima vegetal por mL de solução (SONAGLIO *et al.*, 2003).

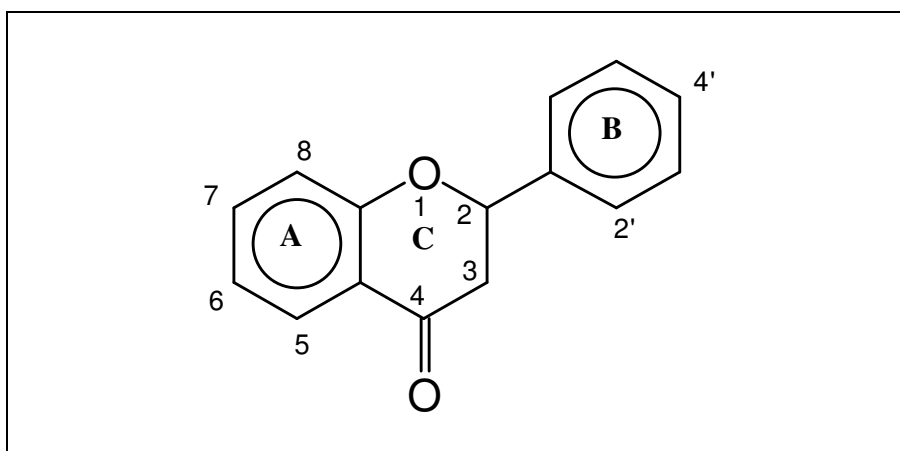
## **3.2. FLAVONÓIDES**

### **3.2.1. Aspectos gerais**

Flavonóides estão entre os compostos naturais mais disseminados em plantas, registrando-se mais de 4200 deles. São um grupo de substâncias fenólicas de baixo peso molecular formadas pela combinação de substâncias derivadas da fenilalanina e do ácido acético, vias biossintéticas do shiquimato e do acetato, respectivamente. Apresentam-se freqüentemente oxigenados e podem ser encontrados, tanto em estado livre (aglicona ou genina) como na forma de glicosídeos, também chamados heterosídeos (ligados a açúcares). Ocorrem quase que exclusivamente em plantas superiores, embora existam também relatos de sua presença em algumas algas e fungos; sendo nessas responsáveis pela coloração das flores e dos frutos (HARBORNE, 1984; DI STASI, 1995; ROBBERS *et al.*, 1997; ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

Embora se possa encontrar flavonóides em diversas formas estruturais, sua estrutura é baseada num núcleo flavonoídico (figura 4). Nos compostos tricíclicos, as unidades são chamadas núcleos A, B e C e os átomos de carbono

recebem a numeração com números ordinários para os núcleos A e C, e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo B. Esta estrutura tem como núcleo fundamental um esqueleto de carbono C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (15 átomos de carbono), constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas (ROBBERS *et al.*, 1997; ZUANAZZI & MONTANHA, 2003). Em outras palavras, o anel benzênico A é condensado com um anel com 6 elementos (C), no qual liga-se um anel fenil-benzênico (B) na posição 2 como um substituinte. Os flavonóides são divididos em classes de acordo com o nível de oxidação do anel C. Assim, as principais categorias estruturais gerais dos flavonóides são: flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavanonóis, flavonóis, flavanóis (catequinas), antocianidinas e seus glicosídeos (antocianinas). Caso o anel C apresente-se como um heterociclo pirânico, produzirá flavanóis (catequinas) e antocianidinas; se for uma pirona, produzirá flavonóis, flavonas e flavanonas. O termo 4-oxo-flavonóides é geralmente usado para descrever flavonóides, tais como flavanóis, flavanonas, flavonóis e flavonas, que carregam um grupo carbonila no anel C, na posição C-4 (AHERNE & NORA, 2002 e SEERAM & NAIR, 2002).



**FIGURA 4:** Núcleo fundamental dos flavonóides (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

A estrutura dos flavonóides pode diferenciar-se significativamente da classificação principal devido a substituintes adicionados à molécula por reações de glicosilação, hidrogenação, hidroxilação, malonização, metilação e sulfatação. Estas modificações estruturais podem alterar sua hidrofilia e suas propriedades biológicas, além de marcadamente elevar seu peso molecular.

Com exceção das catequinas, flavonóides não ocorrem em plantas como agliconas, a ocorrência mais comum é a forma de glicosídeo (HARBORNE, 1986 *apud* AHERNE & NORA, 2002).

Quanto a aspectos físico-químicos, flavonóides são geralmente solúveis em água. Podem ser extraídos com álcool etílico 70% e ficam na fase aquosa, se este extrato for seguido de partição com éter de petróleo. Flavonóides contém sistemas aromáticos conjugados e por isso, mostram intensa banda de absorção em regiões do espectro visível e do ultravioleta (UV) (HARBORNE, 1984).

Nas plantas, estes compostos são relativamente resistentes ao calor, à exposição ao oxigênio, a procedimentos de secagem e a moderados graus de acidificação; porém, podem ser modificados pela exposição à luz. Sua fotoestabilidade depende da natureza do grupo hidroxila ligado ao C-3 do anel C. A ausência de glicosilação neste grupo resulta em aumento da fotoestabilidade da molécula (SMITH *et al.*, 2000).

### **3.2.2. Atividades de flavonóides**

Os flavonóides são responsáveis, nas plantas, por diversas funções, tais como pela proteção contra doenças causadas por microrganismos, proteção contra a incidência de raios ultravioleta e visível, podem também servir como fator dissuasivo contra insetos e animais herbívoros. Entretanto, como alguns produzem coloração, podem ao mesmo tempo funcionar como atraentes de animais, com finalidade de polinização. Alguns representantes dessa classe podem reagir com enzimas, inibindo-as, e como consequência, interferir em processos biológicos da planta. Além disso, podem também agir como antioxidantes, no controle da ação de hormônios vegetais e como agentes alelopáticos (HARBORNE, 1989 e HARBORNE e WILLIAMS, 2000 *apud* ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

Nos seres humanos, alguns destes compostos podem apresentar atividades farmacológicas, como ação anticarcinogênica, antimutagênica,

antiinflamatória, antialérgica, antiulcerogênica, antiviral, além de efeitos cardioprotetores. Estes efeitos são geralmente associados com suas propriedades antioxidantes (SEERAM & NAIR, 2002 e ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

Segundo SCALBERT & WILLIAMSON (2000), polifenóis são agentes redutores e junto com outros agentes redutores da dieta (carotenóides, vitamina C e E) protegem os tecidos do corpo contra o estresse oxidativo. Polifenóis são os mais abundantes antioxidantes em nossa dieta.

Acredita-se que fitonutrientes podem inibir a propagação de reações de radicais livres que podem levar, em última instância, ao desenvolvimento de doenças, especialmente aquelas que se desenvolvem com a idade. Esta capacidade antioxidante, provavelmente, é devida a habilidade dos flavonóides em quelar radicais, ou a outros mecanismos. Na verdade a eficácia antioxidante dos flavonóides *in vivo* é pouco documentada e informações de biodisponibilidade das diferentes classes de flavonóides são limitadas. Assim é crucial que se compreenda melhor estas substâncias (e seus metabólitos) para que possam ser mais bem definidos seus efeitos benéficos para a saúde (MILBURY *et al.*, 2002).

ZUANAZZI & MONTANHA (2003), por sua vez, alertam que embora o emprego de flavonóides em terapêutica seja vasto, este é ainda empírico, não havendo evidências concretas que essas substâncias sejam imprescindíveis para a alimentação humana ou que sejam, de fato, responsáveis pelos efeitos atribuídos a eles na medicina popular.

### **3.2.3. Metabolismo de flavonóides**

As propriedades biológicas dos polifenóis dependem de sua biodisponibilidade e muito da informação disponível hoje sobre este assunto deve-se a comparações com o metabolismo de medicamentos (TAPIERO *et al.*, 2002). Embora a presença de flavonóides na dieta humana seja evidente, os



estudos sobre a capacidade de esses ser absorvidos e alcançarem o sítio de ação ainda são poucos e controversos (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

Flavonóides, na forma heterosídica, tais como as antocianinas, foram por muito tempo considerados não absorvíveis em humanos sem prévia hidrólise do açúcar por um processo enzimático (provavelmente envolvendo um tipo de  $\beta$ -glicosidase) ou por microorganismos (TAMURA *et al.*, 1980 *apud* MIYAZAWA *et al.*, 1999).

NIELSEN e colaboradores (2002), em um estudo de identificação de flavonóides na urina como biomarcadores da ingestão destes, não detectaram nenhum glicosídeo (embora tenham detectado várias agliconas) na urina dos participantes do estudo após a ingestão de dieta rica em flavonóides (composta principalmente de frutas e vegetais).

Porém, outros trabalhos têm demonstrado que não só a absorção humana de glicosídeos flavonoídicos é possível, como também estas substâncias continuam capazes de exercer efeitos biológicos após a absorção. É o caso do estudo de MIYAZAWA e colaboradores (1999), que demonstraram, em ratos e em humanos, que ingeriram antocianinas comumente encontradas em sucos de frutas vermelhas (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3,5-diglicosídeo), que estas antocianinas são absorvidas na sua forma original. Isto foi concluído, pois não foram encontrados no plasma, nem dos ratos, nem dos homens, nenhum dos metabólitos produzidos por hidrólise das antocianinas testadas, somente foram encontradas as estruturas originais (sem modificações). Estes autores sugerem que não ocorre hidrólise destes heterosídeos (por bactérias ou conversão enzimática) no trato gastrointestinal antes da absorção. Em testes *in vitro*, os mesmos autores também demonstraram que, ao contrário do que ocorre com outros flavonóides (por exemplo, a rutina), nenhuma das antocianinas testadas sofreu ação da  $\beta$ -glicosidase. Estes resultados levaram a conclusão de que o cátion flavílio da estrutura das antocianinas (quadro 2) pode ser metabolicamente muito mais estável contra hidrólise que a estrutura de outros flavonóides.

Em 2001, NETZEL e colaboradores estudaram a biodisponibilidade em humanos de antocianinas, pela demonstração da presença na urina humana de antocianinas (delfinidina-3-glicosídeo, delfinidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo), em sua forma inalterada, após o consumo de suco de groselha preta ("*blackcurrant*"). Um dos objetivos foi avaliar se estas substâncias, após serem absorvidas pelo organismo, poderiam ser eliminadas estruturalmente inalteradas, podendo ainda ser capazes de exercer efeitos biológicos. Para isso, as antocianinas foram dosadas na urina dos participantes do estudo após cinco horas da ingestão do suco, tendo sido verificada a presença de antocianinas não modificadas nestas amostras.

Diversos outros trabalhos, como os de e CAO e colaboradores (2001) e MILBURY e colaboradores (2002), também mostraram a presença de antocianinas intactas tanto no plasma, como na urina de voluntários após prévia ingestão do suco de uma fruta conhecida como baga de sabugueiro ("*elderberry*"). Estes trabalhos sugeriram que a absorção de heterosídeos se dá por ação de transportadores ativos dependentes de sódio no intestino, provavelmente os mesmos utilizados para o transporte da glicose.

Uma vez absorvidos, o metabolismo subsequente dos flavonóides em humanos é também pouco conhecido (HOLLMAN & KATAN, 1997 e ROSS & KASUM, 2002). Tem sido sugerido que, durante a metabolização, flavonóides possam sofrer reações de deglicosilação, hidroxilação, metilação, redução, sulfatação e conjugação com ácido glicurônico, até serem finalmente excretados na urina e na bile (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000; AHERNE & NORA, 2002).

A concentração plasmática da maioria dos flavonóides decai rapidamente após 1-2 horas de sua absorção no intestino delgado, porém alguns flavonóides já foram detectados no plasma humano após 48 horas de sua ingestão, é o caso da quercetina (HOLLMAN *et al.*, 1997). Contudo, alguns metabólitos de flavonóides podem ainda exercer atividade biológica e dependendo, da especificidade do método de detecção, poderão não ser detectados no plasma após sofrerem alterações estruturais. Por isso, estimar o período de meia-vida

de algumas dessas substâncias, pode tornar-se bastante difícil (CHANDRA *et al.*, 2001; ROSS & KASUM, 2002).

#### **3.2.4. Antocianinas e antocianidinas**

As antocianinas formam o grupo mais amplo e mais importante dentre os que são responsáveis pela produção de cor nas plantas. Estes pigmentos, intensamente coloridos e solúveis em água, são responsáveis por quase todos os tons de rosa, vermelho, escarlate, laranja, roxo, violeta e azul presentes em pétalas, folhas, frutos e raízes de plantas superiores (HARBORNE, 1984). Pigmentos antocianínicos são responsáveis também pela cor avermelhada de sucos de frutas, vinhos e doces de confeitaria (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

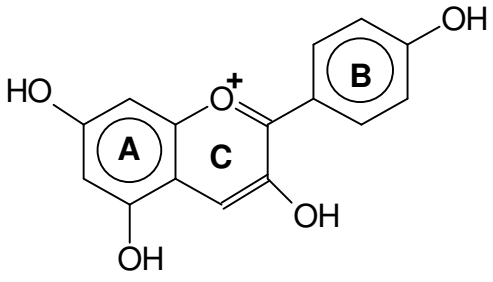
Estes flavonóides ocorrem em plantas como heterosídeos (antocianosídeos), sendo a glicose, a galactose, a ramnose, a xilose e a arabinose, os açúcares mais comuns. O número de açúcares na estrutura também pode variar (geralmente de um a três), assim como sua posição de ligação na molécula (geralmente na hidroxila do C3 e/ou do C5 do núcleo flavílio). A forma livre das antocianinas (agliconas), chamada antocianidina, é quimicamente mais instável que a heterosídica e é formada por hidrólise desta última. O núcleo flavílio (1-fenil-2-benzenopirilíio) e as antocianidinas mais comuns estão representadas no quadro 2 (HARBORNE, 1984; ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

Dentre as antocianidinas, a cianidina, que produz coloração bordô em frutas e flores, é de longe a mais comum. Já a coloração laranja-avermelhada é produzida principalmente por pelargonidina, que possui um grupo hidroxila a menos que a cianidina, enquanto que as colorações lilás, púrpura ou azulada são geralmente produzidas pela delfinidina, que tem um grupo hidroxila a mais que a cianidina (HARBORNE, 1984).

As antocianinas e antocianidinas apresentam freqüentemente substituintes do tipo acila, sendo mais comuns os derivados dos ácidos hidróxi-

cinâmicos (ácido *p*-cumárico, ácido cafeico e ácido ferúlico). Também podem fazer parte de grandes complexos coloridos com outros compostos e diferentes metais (HARBORNE, 1984 e ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

**QUADRO 2:** Núcleo flavílio e principais antocianidinas encontradas na natureza (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003).

 <p style="text-align: center;">Cátion Flavílio</p>		
Nome trivial	C-3'	C-5'
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Malvidina	OMe	OMe
Pelargonidina	H	H
Peonidina	OMe	H
Etunidina	OMe	OH

### 3.3. INTERFERÊNCIA EM EXAMES

#### 3.3.1 Aspectos gerais

Exames laboratoriais efetivamente contribuem para a seleção de procedimentos médicos adicionais, inclusive podem preceder a avaliação da história clínica do paciente, bem como, seu exame físico. Muitos diagnósticos só podem ser estabelecidos, ou etiologias confirmadas, ou terapias apropriadas selecionadas, pelos resultados dos testes laboratoriais, portanto, exames são ferramentas importantes que auxiliam no diagnóstico, prognóstico e no monitoramento de doenças (MARSHALL, 1995 e WALLACH, 1996).

A interpretação dos resultados dos exames laboratoriais é muito mais complexa que a sua simples comparação com os valores de referência e com os padrões típicos de alterações nas diversas doenças, sendo um dos motivos para

tal, problemas que podem ocorrer antes, durante ou após o procedimento de análise laboratorial (RAVEL, 1997).

Conforme BONINI e colaboradores (2002), em uma revisão na literatura sobre erro laboratorial, embora exista abundante literatura científica discorrendo sobre melhorias na qualidade analítica-laboratorial, a literatura sobre erros de laboratório é escassa. Segundo eles, uma das razões para isso é a dificuldade prática em se verificar, medir e reportar os erros. Foi possível também verificar que uma parcela significativa dos erros relatados ocorreu nas fases pré ou pós-analíticas. Conforme os autores, isto é uma evidência da importância da etapa pré-analítica na incidência de erros laboratoriais.

Entre os erros pré-analíticos estão os decorrentes do uso de medicamentos antes da colheita da amostra para exames. Fármacos e outros xenobióticos podem afetar testes clínicos laboratoriais, tanto por interferência em sistemas analíticos como influenciando constituintes endógenos. Alguns efeitos, entretanto, podem passar despercebidos, devido ao uso de medicamentos sem conhecimento médico e também a falta de informação dos profissionais da saúde quanto ao problema da interferência em exames (SIEST *et al.*, 1983; MARSHALL, 1995, WALLACH, 1996, RAVEL, 1997). Por certo, uma completa verificação de tais efeitos causados por medicamentos, incluindo os usados sem prescrição médica, é essencial para a avaliação de possíveis efeitos destes sobre um resultado de laboratório (HANSTEN, 1985).

Toda planta medicinal é na verdade um xenobiótico, isto é, um produto estranho ao organismo humano, que é nele introduzido para fins terapêuticos (LAPA *et al.*, 2003). Assim sendo, plantas podem interferir em processos metabólicos (*in vivo*) ou em métodos analíticos (*in vitro* ou *ex vivo*) e produzir resultados que podem sugerir ou mascarar processos patológicos.

Quando se descobre que um fármaco está interferindo nos resultados laboratoriais a prova pode ser repetida após a interrupção do tratamento pelo paciente, ou o laboratório pode optar pela mudança da técnica de execução do exame para eliminar ou se adequar à interferência. Porém se esta não for

descoberta, poderá dificultar o diagnóstico ou ser interpretada como um erro do laboratório (HANSTEN, 1985).

Conforme SONNTAG & SCHOLER (2001), interferência em exames representa também um enorme problema para a indústria de produtos para diagnóstico, pois esta tem que fornecer sistematicamente listas dos fármacos que interferem com novos testes/métodos laboratoriais que vão sendo desenvolvidos, e milhares de fármacos são utilizados atualmente.

Donald S. Young foi um dos pioneiros na investigação da interferência de fármacos em análises laboratoriais e co-responsável pela organização de um evento em 1975, cujos anais se tomaram uma das principais obras de referência, ainda citados nos manuais que acompanham conjuntos de diagnóstico (YOUNG *et al.*, 1975; LABTEST, 2003).

Segundo SIEST e colaboradores (1983), um dos problemas em interpretar o efeito de fármacos em testes clínicos laboratoriais era que a literatura que surgia sobre o assunto não fornecia informações suficientes. Isto impulsionou a formação de grupos especializados com o objetivo de preparar protocolos e normas para definir clara e cientificamente as pesquisas nesta área. Assim, foram criados na Europa comitês científicos para este fim. Os objetivos destes grupos foram: a) considerar interferência em procedimentos analíticos causados por propriedades químicas ou físicas de fármacos, b) determinar os efeitos dos medicamentos *in vivo*, c) descrever a influência de fármacos nos limites clínicos de referência, d) selecionar testes clínicos e fármacos para testes de triagem, e) avaliar testes clínicos laboratoriais utilizados para monitoração de tratamentos e predição de efeitos de intolerância a fármacos. Trabalhos semelhantes foram também realizados por outros grupos desde então (quadro 3).

Periodicamente, compilações descrevendo relatos de comprovação de interferência (e mesmo ausência de interferência) analítica e fisiológica de fármacos nos diversos exames laboratoriais vêm sendo publicadas (YOUNG, 1995; YOUNG 2000). Assim, o conjunto de informações disponíveis atualmente para fármacos em geral já permite que laboratórios e médicos admitam de forma

mais segura o problema em relação aos medicamentos sintéticos.

**QUADRO 3:** Síntese da evolução na padronização de estudos de interferência de fármacos em exames (SONNTAG & SCHOLER, 2001).

Ano	Evento
1978	Um grupo de pesquisadores foi convidado pela Comunidade Européia para estabelecer recomendações para estudos de interferência em exames.
1984	A Sociedade Francesa de Química Clínica e a Federação Internacional de Química Clínica publicaram, em francês e inglês, recomendações para estudos de avaliação de interferências em exames.
1986	O Comitê Nacional para Padronização Laboratorial publicou uma proposta de normas para a realização de estudos de interferência.
1995	Um grupo de 18 pesquisadores de vários países foi formado para fornecer informações para a indústria de diagnóstico e outros, para a avaliação de novos métodos e instrumentos quanto à possibilidade de reações de interferência. O grupo preparou uma lista com vários fármacos e a concentração destes no sangue e na urina que deveriam ser utilizadas para avaliação de novas metodologias.
1996	Lista preparada em 1995 foi publicada

### 3.3.2. Interferência analítica

Interferência analítica pode ser definida como a influência de um fármaco ou de seus metabólitos na análise de um componente em algum dos estágios do processo analítico (SIEST *et al.*, 1983). Um exemplo clássico deste tipo de interferência é a de uma substância no método de análise de outra, como a que ocorre com a vitamina C no método da glicose-oxidase (RAVEL, 1997).

Propriedades físicas dos fármacos, tais como cor ou fluorescência, são algumas vezes responsáveis pela interferência, principalmente em reações realizadas em condições de pH muito ácido ou básico. Já a interferência química é geralmente mais importante quando altas concentrações do fármaco estão envolvidas. Potencial de redução de um fármaco ou de seus metabólitos é também um freqüente e significativo fator (SIEST *et al.*, 1983).

Os protocolos adotados geralmente para avaliação e detecção de interferências analíticas preconizam a avaliação tanto de fármacos isoladamente, como de seus principais metabólitos. Em relação às formulações farmacêuticas (medicamentos), recomenda-se também a avaliação de excipientes e outros adjuvantes isoladamente (GALTEAU & SIEST, 1984).

Quanto aos estudos de interferência analítica, a primeira etapa envolve a detecção da possível interferência e a segunda etapa, a sua quantificação. Na primeira etapa, é testada uma única concentração da substância em análise correspondente a 10 vezes a maior concentração terapêutica relatada. Quando não se conhecem as concentrações plasmáticas atingidas pela substância em teste, a recomendação é partir da dose terapêutica diária multiplicada por 10, usando-se, como referência para a diluição do material nas amostras de soro ou plasma, um volume de sangue de 5 ou 15 litros, dependendo se a substância se mantém na circulação ou se difunde-se pelos tecidos (GALTEAU & SIEST, 1984).

Este protocolo tem servido de base para inúmeros estudos de interferência analítica, como o de JELIC'-IVANOVIC' e colaboradores (1985) que avaliaram a interferência de vários analgésicos e antirreumáticos em 25 determinações laboratoriais; e o de GASCÓN e colaboradores (1993) que comprovaram interferências significativas para a dipirona envolvendo vários analitos em dois equipamentos de automação bioquímica. Com base em seus resultados, estes autores recomendaram um intervalo de pelo menos 6 horas entre a administração intra-venosa de dipirona e a colheita das amostras de sangue. O mesmo protocolo foi publicado no Brasil na revista do Conselho Federal de Farmácia como diretrizes para avaliação de interferência analítica em 1993 (GUIMARÃES, 1993).

#### **3.3.2.1. Potencial de interferência analítica envolvendo reações de óxido-redução**

A grande maioria dos reagentes disponíveis no mercado para determinação de colesterol, glicose, ácido úrico e triglicerídeos utiliza como



fundamento químico variações da reação de óxido-redução descrita por TRINDER em 1969 para a determinação de glicose (quadro 4 na seção de Anexos). Trata-se de um método enzimático-colorimétrico, ou seja, numa etapa inicial o analito de interesse é oxidado pela ação de uma enzima, dando como um dos produtos o peróxido de hidrogênio, que reage em seguida com um cromogênio. Esta última reação é catalisada pela enzima peroxidase, produzindo ao final um composto corado, cuja concentração é diretamente proporcional ao analito de interesse, e que absorve luz em torno de 500 nm, podendo ser medido espectrofotometricamente (MOTTA, 2003).

A interferência negativa dos antioxidantes em reações de óxido-redução é clássica e é citada por praticamente todos os fornecedores nos respectivos manuais de seus conjuntos diagnósticos, bem como na maioria dos livros de bioquímica clínica hoje disponíveis. Isto se deve ao fato de que, ao longo de vários anos, diversos autores terem testado e comprovado esta interferência, utilizando como agente antioxidante a vitamina C e métodos laboratoriais que utilizam a reação de TRINDER (PESCE & BODOURIAN, 1977; WRIGHT & FOSTER, 1980; BADRICK & CAMPBELL, 1992; FREEMANTHE *et al.*, 1994; RODRIGUES *et al.*, 1997; PEDRAZZI *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 1999).

Ainda não existe consenso sobre o mecanismo da interferência negativa produzida por antioxidantes na reação de TRINDER. Porém, entre as hipóteses mais aceitas, está a deste efeito ser causado pelo consumo de componentes da reação de TRINDER através de reação com os antioxidantes (como por exemplo, pela redução do peróxido de hidrogênio antes da sua reação com o cromogênio) ou por reação direta sobre o produto corado da reação, reduzindo-o a um composto que não absorve cor no visível (SHARP, 1972; MAGUIRE & PRICE, 1983).

Conforme WHITE-STEVENSON & STOVER (1982), o problema da interferência de agentes redutores sobre a reação de TRINDER foi, até certo ponto, reduzido com o advento do uso de acopladores na reação. Este uso foi adaptado para reações que utilizam oxidases e peroxidases por GOCHMAN & SCHMITZ em 1972. No mecanismo de acoplamento oxidativo, o nitrogênio da

hidrazona reage com um anel aromático na presença de um agente oxidante. Uma vez que o sistema indicador é oxidado, gera-se um produto covalentemente ligado que deve resistir à redução por agentes redutores. Se a reação entre o acoplador, o agente oxidante (peróxido de hidrogênio) e o cromógeno (composto fenólico) for mais rápida que a reação entre o ácido ascórbico (ou outro agente redutor) e o agente oxidante da reação, então a interferência do ácido ascórbico sobre a reação poderia ser sensivelmente reduzida, uma vez que o produto formado pela oxidação do acoplador parece ser resistente à ação da vitamina C. Porém, a resistência da reação à ação do ácido ascórbico depende do acoplador utilizado, sendo melhores os que possuem mais grupos *orto* e *para* dirigentes, que ativam o anel aromático na substituição eletrofílica.

Porém, estudos realizados após 1982, com diversas marcas de reagentes, utilizando diferentes acopladores, tais como o de FREEMANTLE e colaboradores (1994) e o de RODRIGUES e colaboradores (1997), mostraram que interferências negativas do ácido ascórbico na reação de TRINDER continuaram ocorrendo, mesmo com o uso de acopladores.

### **3.3.2.2. Berinjela como potencial interferente em exames**

A berinjela é rica em antioxidantes, principalmente polifenóis, dentre eles, flavonóides antocianinas (derivados da delphinidina). A atividade antioxidante da *S. melongena* já foi corroborada por diversos estudos, tais como os de SUDHEESH e colaboradores (1999), KANEYUKI e colaboradores (1999) e NODA e colaboradores (2000); entre outros.

Em 1998, NOROOZI e colaboradores demonstraram que, em concentrações eqüimolares, muitos flavonóides apresentam capacidade antioxidante superior a da vitamina C. Neste estudo foi testada a capacidade de inibição do dano oxidativo produzido por peróxido de hidrogênio no DNA de linfócitos *in vitro*. A delphinidina não foi objeto deste estudo, porém todos os outros flavonóides (rutina, apigenina, quercetina-3-glicosídeo, quercitrina, campeferol, miricetina, luteonina e quercetina) apresentaram atividade antioxidante muito

superior a da vitamina C (47  $\mu\text{mol/L}$  de quercetina inibiu 50% do dano no DNA dos linfócitos, enquanto que o mesmo efeito só foi obtido com 233  $\text{mmol/L}$  de vitamina C).

CAO e colaboradores (1998) comprovaram o aumento da atividade antioxidante do soro de indivíduos após o consumo de alimentos ricos em antocianinas (morangos, espinafre, vinho tinto) e vitamina C. Os alimentos e a vitamina foram preparados de forma que as quantidades ingeridas pelos indivíduos tivessem capacidade antioxidante equivalentes. Quatro horas após a ingestão dos alimentos, ocorreu um significativo aumento na capacidade antioxidante do soro destes voluntários, independente do alimento ingerido, e este aumento foi similar ao obtido nos indivíduos que ingeriram vitamina C. Assim, pode-se concluir que flavonóides alteram a capacidade antioxidante do sangue à semelhança da vitamina C.

SEERAM & NAIR (2002) definiram para os principais compostos antociânicos as alterações estruturais que contribuem para sua ação antioxidante. Estes autores concluíram que a atividade das antocianinas aumenta com o número de hidroxilas ligadas ao anel B, enquanto o íon flavílio do anel C contribui para a estabilização geral do resultante radical fenoxila. Adicionalmente, substituições na hidroxila do anel B com grupos metoxila diminuem significativamente a atividade antioxidante. Outro importante determinante da atividade antioxidante foi a conjugação de vários substituintes na posição 3 do anel C, a qual diminuiu a atividade antioxidante em todos os compostos testados. Em relação as antocianidinas, a atividade antioxidante das antocianinas diminui conforme aumenta o número de resíduos de açúcares na posição 3 da molécula. Neste estudo, a delphinidina foi o antioxidante mais efetivo no sistema utilizado, sendo que o efeito foi um pouco menor para a delphinidina-3-galactosídeo, contudo em ambas apresentaram efeito antioxidante muito superior ao da vitamina E, utilizada no experimento como controle.

Quanto a biodisponibilidade de antocianinas e antocianidinas, trabalhos, como os de MIYAZAWA e colaboradores (1999), CAO e colaboradores (2001), NETZEL e colaboradores (2001), MILBURY e colaboradores (2002) e NIELSEN

e colaboradores (2002), permitiram concluir que estas substâncias são de fato absorvidas e metabolizadas ou simplesmente excretadas inalteradas pelo homem.

Segundo LIN e colaboradores (2002), flavonóides são potentes inibidores de xantina-oxidase, embora o mecanismo desta inibição ainda não tenha sido elucidado. Assim, é possível que extratos à base de berinjela inibam reações enzimáticas, principalmente àquelas que utilizam oxidases.

Estudos indicam que extratos de berinjela contêm algumas enzimas e inibidores enzimáticos (ver itens 3.1.2.3 e 3.1.3.2). Embora as reações enzimáticas utilizadas em testes clínicos tendam a ser bastante específicas, existem algumas substâncias que podem interferir na atividade das enzimas, inibindo-as diretamente ou a algum de seus cofatores, ou ainda por outros mecanismos (PINCUS *et al.*, 1996). Mais especificamente, fármacos podem influenciar a medida de atividade enzimática e a concentração de proteínas bloqueando ou modificando certos sítios catalíticos ou imunoquímicos usados na análise. Este tipo de interferência geralmente provoca inibição, mas ocasionalmente pode levar a ativação da proteína correspondente (SIEST *et al.*, 1983).

Não foram encontrados estudos que investigaram a possibilidade deste tipo de interferência em testes laboratoriais ocorrer pela utilização de alimentos ou fitoterápicos contendo inibidores enzimáticos. Além das reações enzimático-colorimétricas (como a reação de TRINDER), diversas enzimas humanas são dosadas por método cinético (produção de produto ou consumo de substrato/tempo de reação – curvas de Michaelis-Menten). É o caso das transaminases (quadro 4, seção de Anexos), fosfatases, cinases, etc. Como não se conhece o mecanismo pelo qual os inibidores enzimáticos da berinjela atuam e como não há estudos de avaliação da inibição de enzimas humanas comumente dosadas em laboratório clínico, pode-se supor que estas possam ser inibidas, produzindo eventualmente resultados falsos.

#### 4. MATERIAIS

Foram utilizadas três marcas de cápsulas de extrato seco de berinjela, sendo uma das marcas em dois lotes (identificadas como ES1a, ES1b, ES2, ES4), uma marca de berinjela composta com alcachofra (ES3), uma de berinjela pulverizada (BP) e uma de extrato fluido comercial (EFC). Uma amostra de berinjela fresca adquirida em supermercado (BF) foi utilizada apenas para análise por CCD (cromatografia em camada delgada).

Todos os solventes utilizados foram de grau analítico (P. A.). Também foram utilizados reagentes de grau P. A. para preparar soluções de iodo 0,01 N, tiosulfato de sódio 0,01 N, carbonato de sódio a 7,5%, vanilina-sulfúrica, vanilina-fosfórica e NP/PEG (difetilborato de aminoetanol 1% em metanol).

Foram ainda utilizados: amido de milho comercial (QUIMIDROL Ltda), amido comercial solúvel (REAGEN), padrão de quercetina (ALDERICH), soros calibradores comerciais, em nível patológico, liofilizados, de origem bovina (BIOBRÁS SA), reagente comercial de Folin-Ciocalteu, placas cromatográficas de sílica gel GF254 (MERCK) e de celulose (MACHEREY-NAGEL), além de cuba cromatográfica (CAMAG), pistola de aquecimento, lâmpada UV e espectrofotômetro.

Para as determinações bioquímicas foi utilizado aparelho de automação COBAS MIRA PLUS (ROCHE DIAGNOSTICS) e reagentes BIOBRÁS com as seguintes especificações:

- a) Para dosagem de Colesterol Total, pelo método enzimático da colesterol-oxidase, utilizando revelação pelo método de TRINDER.

- b) Para dosagem de Triglicérides, pelo método enzimático da lipase, utilizando revelação pelo método de TRINDER.
- c) Para dosagem de Ácido Úrico, pelo método enzimático da uricase com revelação pelo método de TRINDER.
- d) Para dosagem de Glicose, pelo método da glicose-oxidase, com revelação pelo método de TRINDER.
- e) Para dosagem da Aspartato-amino-transferase (AST), por método cinético.
- f) Calibradores nos níveis: normal e alterado, para calibração de aparelho de automação COBAS MIRA PLUS.

## **5. MÉTODOS**

### **5.1. ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUTOS À BASE DE BERINJELA**

#### **5.1.1. Análise das informações contidas nas embalagens**

As marcas de produtos à base de berinjela foram comparadas quanto à forma farmacêutica, conteúdo das cápsulas, posologia e outras informações fornecidas na embalagem pelos fabricantes.

#### **5.1.2. Análise macroscópica**

Uma pequena alíquota de cada amostra, correspondendo aos produtos com extratos secos (ES1a, ES1b, ES2, ES3 e ES4) e ao com berinjela pulverizada (BP) foi pressionada entre duas lâminas de vidro e a cor e o aspecto do material foi analisado macroscopicamente.

#### **5.1.3. Teste de solubilidade dos extratos**

Inicialmente, em vários tubos de ensaio foram adicionados cerca de 300 mg da amostra ES1a, o mesmo foi realizado com a amostra ES2. A estes tubos foram adicionados volumes crescentes (iniciando com 0,3 mL até 30 mL) de vários solventes puros e de combinações de solventes.

Foram testadas as solubilidades em: água, etanol, metanol, acetona, ácido sulfúrico 10%, ácido clorídrico a 10%, diclorometano, propilenoglicol, éter de petróleo, etanol/água (1:1, 7:3 e 8:2), metanol/água (1:1), metanol/acetona (1:1), acetona/diclorometano (1:1), metanol/diclorometano (1:1) e éter de

petróleo/clorofórmio (1:1). As demais amostras foram analisadas posteriormente com os solventes que mostraram melhores resultados no teste inicial.

#### **5.1.4. Testes com o resíduo insolúvel em metanol/água (1:1)**

##### **5.1.4.1. Cálculo do rendimento**

Em balança analítica pesou-se exatamente cerca de 1000 mg das amostras de extrato seco (ES1a a ES4) em tubos de ensaio. A cada tubo foram adicionados 5 mL de água destilada e 5 mL de metanol, as amostras foram submetidas a agitação vigorosa em vortex (1 min) e ao ultra-som (30 min). As misturas ficaram em maceração por uma semana em geladeira, após este período, foram centrifugadas e o sobrenadante separado. Adicionou-se novamente água e metanol e deixou-se em maceração por mais um dia. Os tubos foram novamente agitados (vortex por 1 min), centrifugados e o sobrenadante separado. O resíduo insolúvel foi então submetido a sucessivos procedimentos de extração, deixando-se as amostras em maceração por intervalos de 15 minutos, seguidos de centrifugação. A etapa de extração dos compostos solúveis somente foi concluída após constatação visual de que a cor do sobrenadante não se alterava com a extração. As amostras foram filtradas sobre um filtro de papel e o resíduo insolúvel dessecado em estufa 50 °C até peso constante. O papel filtro (com o resíduo) ficou ainda mais uma semana em estufa 50 °C e então foi novamente pesado. A quantidade de extrato solúvel foi calculada pela diferença entre o peso inicial da amostra e o peso final do resíduo que ficou no papel filtro. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

##### **5.1.4.2. Teste de caracterização de amido**

Os resíduos insolúveis foram testados qualitativamente para amido conforme Farmacopéia Brasileira 3<sup>a</sup> ed. (FARMACOPÉIA, 1977). Foi misturado 1,0 g do resíduo a 1 mL de água destilada e em seguida foram adicionados 200 mL de água fervente. A 5 mL desta mistura foram adicionados mais 100 mL de água fria e 0,5 mL de iodo 0,01 N. Como controle, foi utilizado amido de milho comercial e amido solúvel. Avaliou-se a intensidade da coloração formada.



Num segundo momento, a todos os tubos da etapa anterior adicionou-se 0,5 mL de tiosulfato de sódio 0,01 N e verificou-se o desaparecimento da coloração. A seguir, a mistura de 2 g do resíduo em 100 mL de água foi aquecida até ebulição e observação da formação de suspensão coloidal. Para caracterizar a presença de amido na berinjela *in natura*, uma fruta fresca foi fatiada (cerca de 0,5 cm de espessura) e borrifada com solução de iodo 0,01 N.

### **5.1.5. Análises cromatográficas**

#### **5.1.5.1. Definição do melhor sistema cromatográfico**

Extratos de ES1a preparados com etanol/água 1:1, água, metanol, ácido clorídrico 10% e ácido sulfúrico 10% (conforme item 5.1.3), após ficarem em maceração por 24 h, foram cromatografados utilizando os seguintes sistemas:

- a) Placa de sílica gel, eluída com diclorometano/metanol 95:5, observada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e revelada com vanilina-sulfúrica.
- b) Placa de sílica gel, eluída com diclorometano/metanol 95:5, observada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e revelada com NP/PEG.
- c) Placa de sílica gel, eluída com diclorometano/metanol 90:10, observada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e revelada com vanilina-fosfórica.
- d) Placa de sílica gel, eluída com clorofórmio/etanol 8:2, observada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e revelada com vanilina-fosfórica.
- e) Placa de celulose, eluída com BAW (N-butanol/ácido acético/água 4:1:2), observada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e revelada com NP/PEG (difenil-boril-oxietilamina a 1% em metanol).
- f) Placa de celulose, eluídas com clorofórmio/etanol/água 80:40:3, observada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e revelada com vanilina-fosfórica.

### **5.1.5.2. Preparo das amostras para análise cromatográfica comparativa**

As amostras comerciais com extrato seco (ES1a, ES1b, ES2, ES3, ES4) e com berinjela pulverizada (BP) foram preparadas por maceração em metanol (20 g%) por 24 horas. Outras amostras foram igualmente preparadas, porém ficaram em maceração com metanol por 7 dias.

A amostra de extrato fluido comercial (EFC) foi aplicada na placa cromatográfica sem prévio tratamento.

A amostra de berinjela fresca (BF) corresponde a extrato metanólico (80 g de planta por 100 mL de solvente) preparado a partir de berinjela com casca, picada e macerada com metanol por 30 dias.

### **5.1.5.3. Análise cromatográfica comparativa**

As amostras foram aplicadas em placas de sílica gel, eluídas com diclorometano/metanol (95/5), analisadas sob luz UV 254 e 365 nm e reveladas com vanilina-sulfúrica.

### **5.1.6. Determinação do índice de espuma (IE)**

Este teste foi realizado conforme WHO (1998). Um grama das amostras ES1a, ES1b, ES2, ES3, ES4 e BP foi dissolvido em 100 mL de água destilada. A mistura foi fervida por 30 minutos, resfriada e filtrada para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume para 100 mL. Em dez tubos de ensaio foram pipetados volumes crescentes do extrato (1,0 mL no primeiro tubo, 2,0 no segundo, e assim por diante, até 10,0 mL no último tubo). O volume nos tubos, numerados de 1 a 9, foi completado para 10 mL com água destilada. Os tubos foram submetidos à agitação manual vigorosa por 15 segundos e após um repouso de 15 minutos, fez-se a leitura da espuma que ainda persistia no tubo. Se a espuma não alcançar um centímetro em nenhum dos tubos da série, o IE é menor que 100. Se em algum dos tubos a espuma for superior a 1 cm, calcula-se o IE dividindo-se 1000 pelo volume de extrato do tubo.

### 5.1.7. Dosagem de fenóis totais

Para cada amostra (ES1a a ES4 e BP) preparou-se uma suspensão de 100 mg em 10 mL de água deionizada, deixando-se a mistura em repouso por 30 minutos. Em tubos de ensaio foram pipetados 100  $\mu$ L da suspensão de cada uma das amostras (*tubos amostra*), 100  $\mu$ L de soluções do padrão de quercetina em água, nas seguintes concentrações: 1200  $\mu$ M, 800  $\mu$ M, 600  $\mu$ M, 400  $\mu$ M, 200  $\mu$ M, 100  $\mu$ M e 50  $\mu$ M (*curva padrão*); ou 100  $\mu$ L de água destilada (*tubo branco*). Em seguida, a cada tubo, foi adicionado 1,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído 1:3. A mistura foi deixada em repouso por 30 segundos e então foram adicionados 4 mL de carbonato de sódio 7,5% em todos os tubos. Após 2 horas foi medida a absorbância em espectrofotômetro a 765 nm (SINGLETON & ROSSI, 1965). As determinações foram realizadas em triplicata. Uma curva de calibração foi traçada com os valores de absorbância dos padrões e sua correspondente concentração. Esta curva foi em seguida utilizada para a obtenção das concentrações em fenóis das amostras. Utilizou-se para a confecção da curva de calibração e cálculo dos valores de fenol total das amostras o programa *GraphPad Instat tm*.

## 5.2. ANÁLISE DO POTENCIAL DE INTERFERÊNCIA *in vitro*

Para a preparação das amostras, o soro calibrador na primeira etapa foi fracionado em alíquotas, e adicionado de quercetina (SQ<sub>st</sub>), extrato seco (SE<sub>st</sub>) ou amido (SA<sub>st</sub>), sendo preparados também como controles: um de quercetina (CQ<sub>st</sub>), soro puro (SP1) e um “branco de amostra” (BA<sub>st</sub>). Este último foi preparado com salina e extrato seco.

Na segunda etapa, foram testados soro com extrato seco tratado (SET<sub>st</sub>) e como controle: soro puro (SP2). Já na terceira etapa, as alíquotas de soro (SP2) foram adicionadas de quercetina (SQ<sub>t</sub>), extrato seco (SE<sub>t</sub>) ou amido (SA<sub>t</sub>), sendo preparados controles de quercetina (CQ<sub>t</sub>) e soro puro (SP2).

Para a quarta e última etapa, adicionou-se ao soro (SP3) extrato seco tratado (SET<sub>t</sub>) e foi utilizado como controle soro puro (SP3).

Para a preparação das amostras com dose supraterapêutica das substâncias em teste obteve-se uma concentração final de 12,8 mg de extrato seco /10 mL de plasma ( $SE_{st}$ ); e de 1,57  $\mu$ g de quercetina /10 mL de plasma ( $SQ_{st}$ ) e, no caso das com dose terapêutica; 1,28 mg de extrato seco /10 mL de plasma ( $SE_t$ ); e de 0,157  $\mu$ g de quercetina /10 mL de plasma ( $SQ_t$ ). As mesmas concentrações do extrato seco foram utilizadas para na preparação do controle com amido.

A preparação do  $SET_{st}$  foi baseada na metodologia proposta por GIL-IZQUIERDO e colaboradores (2001). Foram utilizados 640 mg de extrato seco (uma dose) diluídos em 100 mL de água. Para mimetizar a digestão ácida (gástrica), o extrato aquoso obtido foi acidificado com ácido clorídrico até pH 2,0 e, em seguida, incubado em banho-maria 37 °C com agitação por duas horas. Para mimetizar a digestão básica (intestino delgado), ao extrato aquoso, que permaneceu no banho-maria, nas mesmas condições da etapa anterior, foi adicionado aos poucos (durante 30 minutos), bicarbonato de sódio até alcançar-se o pH 5,0. O extrato alcalinizado foi mantido no banho-maria por mais duas horas. Este extrato foi liofilizado e pesado (170 mg), sendo que 17 mg foram dissolvidos em 50 mL de soro calibrador. O  $SET_t$  foi preparado diluindo-se o  $SET_{st}$  na proporção de 1:10 com o soro calibrador puro (SP2).

As amostras de soro foram preparadas um dia antes dos testes e refrigeradas até a execução dos mesmos. Aquelas que continham extrato seco ou amido foram previamente centrifugadas por 5 minutos em 4000 r.p.m. Todas as amostras foram transferidas para cubetas de amostra para aparelho de automação COBAS MIRA PLUS, sendo que foram preparadas oito cubetas para cada uma das amostras em todas as quatro etapas de testes. O aparelho foi programado segundo manual disponibilizado pelo fornecedor dos reagentes (BIOBRÁS, 2003) e foi também devidamente calibrado para a execução dos testes.

Os testes bioquímicos foram realizados em triplicata em cada uma das caçapas de amostra, totalizando 24 testes por amostra, por analito e por etapa. Os analitos dosados por etapa e por amostras foram os seguintes:

- a) Primeira etapa: glicose, colesterol total, ácido úrico, triglicerídeos e aspartato-aminotransferase nas amostras: SP1, SE<sub>st</sub>, SA<sub>st</sub>, SQ<sub>st</sub>, CQ<sub>st</sub> e BA<sub>st</sub>.
- b) Segunda etapa: glicose, colesterol total, ácido úrico, triglicerídeos e aspartato-aminotransferase nas amostras: SP2 e SET<sub>st</sub>.
- c) Terceira etapa: glicose nas amostras: SP2, SE<sub>t</sub>, SA<sub>t</sub>, SQ<sub>t</sub> e CQ<sub>t</sub>.
- d) Quarta etapa: ácido úrico, glicose e triglicerídeos nas amostras: SP2 e SET<sub>t</sub>.

Os resultados obtidos em cada uma das etapas foram analisados com o programa de estatística Arcus versão 2.0, através de Análise de Variância – ANOVA, com confirmação pelo Teste de Scheffé, em alguns casos, pelo Teste *t* de Student complementado pelo teste de Mann-Whitney.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. ANÁLISE COMPARATIVA DE PRODUTOS À BASE DE BERINJELA

#### 6.1.1. Análise das informações contidas nas embalagens

Pelo quadro 4 pode-se observar a falta de padronização nos vários produtos quanto a definição da composição e das doses recomendadas, entre outros aspectos comparados.

Conforme MOUETTE (1988) *apud* SONAGLIO (2001), a declaração dos extratos secos deve conter, além da denominação do fármaco, a mistura extrativa que deu origem ao produto, a relação ponderal do fármaco para uma parte de extrato, a concentração da substância marcadora e os adjuvantes presentes. É interessante observar que nenhuma marca relata em sua embalagem a presença de excipientes ou adjuvantes nem descreve a forma como o extrato é obtido.

Segundo informações obtidas por telefone com o fabricante de uma das marcas analisadas neste trabalho, o extrato seco de berinjela é obtido por maceração em água/etanol (70:30) a temperatura ambiente, seguido de secagem em equipamento “spray dryer” a temperatura de 210 °C, sendo o rendimento de extrato seco a partir do fruto *in natura* da ordem de 10%. O fabricante informou também que são adicionados excipientes ao extrato, mas não revelou qualidade nem quantidade, alegando segredo industrial.

Não há consenso sobre a melhor forma de uso ou dose desta planta que deva ser utilizada. Também não foram encontrados dados na literatura que pudessem esclarecer esta questão. Mesmo para produtos industrializados, como é o caso de cápsulas com extrato seco de berinjela, segundo a Portaria nº 841 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL,

1998), que regulamenta o registro destes produtos, cada fabricante deve recomendar o modo de uso no rótulo de seu produto.

**QUADRO 4:** Informações contidas nas embalagens de produtos à base de berinjela.

Produto	Forma Farmacêutica	Composição e conteúdo médio das cápsulas	Posologia indicada	Conteúdo de cápsulas por embalagem	Presença de excipientes /adjuvantes
ES1a/ES1b*	Cápsulas	320 mg de extrato seco de berinjela (10:1)	Adulto: 2 cápsulas antes das principais refeições	50 cápsulas	Não relatada
ES2	Cápsulas	450 mg de extrato seco de berinjela (equivalentes a 53,3 g de berinjela fresca)	1 cápsula três vezes ao dia	45 cápsulas	Não relatada
ES3	Cápsulas	240 mg de extrato seco de berinjela e 160 mg de extrato seco de alcachofra	2 cápsulas três vezes ao dia	60 cápsulas	Não relatada
BP	Cápsulas	300 mg de berinjela em pó	2 cápsulas três vezes ao dia, antes das principais refeições	100 cápsulas	Não relatada

\*Trata-se da mesma marca em dois lotes. ES4 não foi incluído na análise por ser produto vendido a granel para farmácias de manipulação.

### 6.1.2. Análise macroscópica

A coloração acastanhada das amostras variou significativamente de intensidade nas marcas analisadas. Em ordem decrescente de intensidade de coloração as amostras: BP, ES2, ES1a e ES1b foram as que apresentaram a tonalidade mais escura (caramelo), seguida pela amostra ES3 (bege), e pela ES4 (marfim). Quanto ao aspecto todas as amostras, exceto a de berinjela pulverizada (BP), apresentaram-se como um pó fino e homogêneo. A de BP mostrou-se como um pó mais grosso e heterogêneo (figura 5).

A variação encontrada na coloração e no aspecto dos extratos mostra que nem sempre produtos elaborados a partir da mesma matéria-prima e com a mesma indicação de uso, têm aparência semelhante.



**FIGURA 5:** Comparação macroscópica do conteúdo das cápsulas dos produtos à base de berinjela. Da esquerda para a direita, amostras E4, E3, E2, E1a, E1b e BP.

### **6.1.3. Teste de solubilidade dos extratos**

Este teste foi realizado com base na Farmacopéia Brasileira 3<sup>a</sup> edição (FARMACOPÉIA, 1977), a fim de se determinar o melhor sistema de dissolução dos extratos a ser utilizado nas análises cromatográficas posteriores.

Nenhuma das amostras foi completamente solúvel nos solventes testados. O melhor líquido extrator foi água destilada, seguida de água/metanol 1:1, água/etanol (1:1, 8:2, 7:3), metanol, etanol e pelos ácidos sulfúrico e clorídrico diluídos a 10 %, consecutivamente.

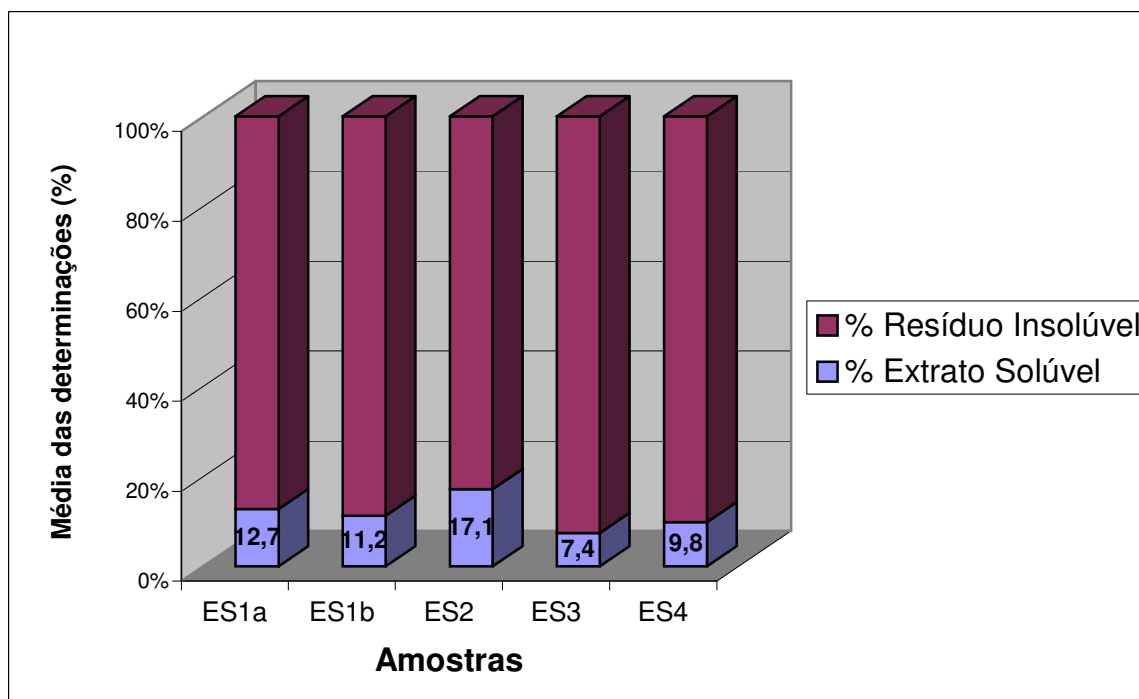
### **6.1.4. Testes com o resíduo insolúvel**

#### **6.1.4.1. Cálculo do rendimento**

Como nenhuma das amostras solubilizou-se completamente em qualquer dos solventes ou combinação de solventes testados, os resíduos insolúveis foram analisados para caracterizar a presença de excipientes ou adjuvantes insolúveis e sua proporção em relação ao extrato seco de berinjela nas amostras com extrato seco (ES1a a ES4).



O resíduo insolúvel das amostras (figura 6A) foi quantificado e os resultados obtidos encontram-se na tabela 1 (seção de Anexos). Em relação ao percentual médio de extrato solúvel das amostras, foi maior para ES2 (17,1%), seguido de ES1a (12,7%), ES1b (11,2%), ES4 (9,83%) e ES3 (7,4%). Assim, o percentual de extrato solúvel foi muito baixo em todas as amostras analisadas (figura 6).



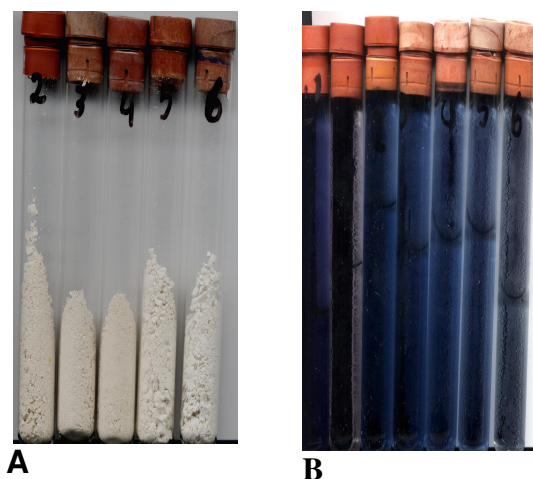
**FIGURA 6:** Percentual de extrato solúvel e resíduo insolúvel em metanol/água 1:1, das amostras comerciais de extrato seco de berinjela.

#### 6.1.4.2. Teste de caracterização de amido

Todos os resíduos insolúveis (figura 7A) apresentaram reação fortemente positiva para amido, reação com iodo, pela formação de cor azul intensa (figura 7B), que desapareceu após a adição de tiosulfato de sódio. Os resíduos também formaram com água aquecida a 100 °C, uma solução coloidal. Segundo a Farmacopéia Brasileira 3<sup>o</sup> ed., o amido é insolúvel em água fria, mas forma uma suspensão coloidal em água quente (FARMACOPÉIA, 1977).

Os resultados dos testes com resíduos insolúveis coincidem com os do amido utilizado para controle, estes também conferem com as especificações fornecidas para o amido pela Farmacopéia Brasileira (FARMACOPÉIA, 1977).

A presença de amido na fruta fresca *in natura* foi igualmente testada, para fins de comparação. A solução de iodo borrifada sobre as fatias de berinjela, mostrou que o conteúdo em amido é mínimo e concentra-se próximo às sementes. Como o amido é insolúvel tanto em água, quanto em álcoois e em outros solventes de uso comum, não teria sido extraído na maceração que precede a secagem no “spray dryer”, utilizado na produção do extrato seco.



**FIGURA 7:** **A)** Resíduo insolúvel obtido após extrações consecutivas com água/metanol 1:1. Da esquerda para a direita, amostras: ES1a, ES1b, ES2, ES3 e ES4. **B)** Teste com iodo 0,01N para detecção de amido nos resíduos insolúveis. Da esquerda para a direita: controle positivo de amido de milho, controle positivo de amido “solúvel”, e resíduos insolúveis de ES1a, ES1b, ES2, ES3 e ES4.

A presença de quantidades elevadas de amido nas cápsulas de berinjela não seria, em princípio, esperada, considerando as especificações dos fabricantes.

Estes resultados demonstram a presença de elevada concentração de amido nas amostras, sugerindo que este foi adicionado ao extrato seco como excipiente. Segundo FARMACOPÉIA (1997) o amido como excipiente de formulações farmacêuticas é utilizado como aglutinante de comprimidos e como desagregante da formulação após a ingestão.

Uma vez que, entre os compostos químicos já estudados da berinjela, aquele que estaria mais relacionado com sua potencial atividade farmacológica,

é um flavonóide (a nasunina) e considerando que - segundo HARBORNE (1984), flavonóides são geralmente solúveis em água e álcoois, podendo ser extraídos por mistura hidroalcoólica - podemos inferir que a quantidade de nasunina na amostra é proporcional a quantidade de extrato solúvel na cápsula do produto; ou seja, as amostras com quantidades menores de extrato solúvel seriam também aquelas com menor atividade farmacológica potencial.

### **6.1.5. Análises cromatográficas**

#### **6.1.5.1. Definição do melhor sistema cromatográfico**

O objetivo foi verificar quais sistemas cromatográficos eram mais adequados para em seguida proceder a uma análise comparativa das amostras em relação ao seu perfil cromatográfico. Assim, diversos tipos de extratos e sistemas cromatográficos foram testados e comparados. Entre todos, os melhores resultados, em termo do número de bandas reveladas e de sua resolução, foram obtidos com extratos metanólicos, aplicados em placa de sílica gel e eluídas com diclorometano/metanol 95:5, observadas sob luz UV (365 e 254 nm), com posterior revelação com vanilina-sulfúrica.

#### **6.1.5.2. Preparo das amostras para análise cromatográfica comparativa**

Amostras comerciais que ficaram em maceração em metanol por 24 horas e que ficaram em maceração no mesmo solvente por uma semana foram utilizadas para comparar se o tempo de maceração poderia modificar a constituição e/ou o rendimento do extrato.

#### **6.1.5.3. Análise cromatográfica comparativa**

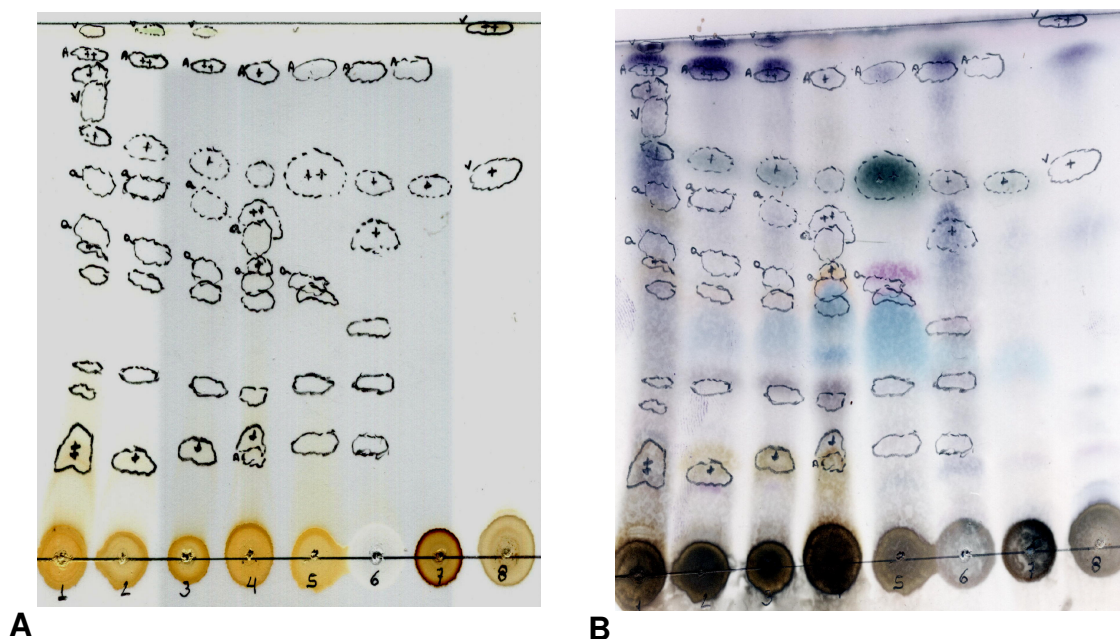
Os resultados obtidos com os produtos macerados em metanol por 24 horas (BP e ES1a a ES4), extrato fluido comercial (EFC), cromatografados segundo o que foi discutido no item 5.1.5.3 são mostrados na figura 8.

Já, na figura 9A e 9B, temos as cromatografias obtidas com os produtos macerados em metanol por 7 dias (BP e ES1a a ES4), extrato fluido comercial

(EFC) e extrato metanólico obtido a partir de berinjela fresca (BF), igualmente cromatografados segundo item 5.1.5.3.



**FIGURA 8:** CCD de extratos de amostras comerciais de berinjela, eluída com diclorometano-metanol 95:5, revelada com vanilina-sulfúrica. As amostras são da esquerda para a direita: BP (1), ES1a (2), ES1b (3), ES2 (4), ES3 (5), ES4 (6) e EFC (7).



**FIGURA 9: A)** CCD, antes da revelação com vanilina-sulfúrica, observadas sob luz UV 254 nm (linha não pontilhada) e UV 365 (linha pontilhada). As letras ao lado das manchas correspondem às cores vistas em 365 nm: “a” amarelo, “A” azul e “v” vermelho. As cruzes dentro das manchas se referem à intensidade das manchas: mancha forte (+) e mancha muito intensa (++). Da esquerda para a direita, as amostras aplicadas foram BP (1), ES1a (2), ES1b (3), ES2 (4), ES3 (5), ES4 (6), EFC (7) e BF (8). **B)** A mesma CCD, após revelação com solução de vanilina-sulfúrica.

Pelas cromatografias, observamos que as amostras de extrato seco apresentaram perfis cromatográficos semelhantes, mas não idênticos. Isto sugere que variações nos procedimentos industriais de extração, ou mesmo nas frutas utilizadas para a obtenção dos extratos podem efetivamente alterar a composição química destes. Além disso, podemos observar que foi o extrato obtido a partir do produto com berinjela pulverizada (BP) o que apresentou maior número de bandas na cromatografia.

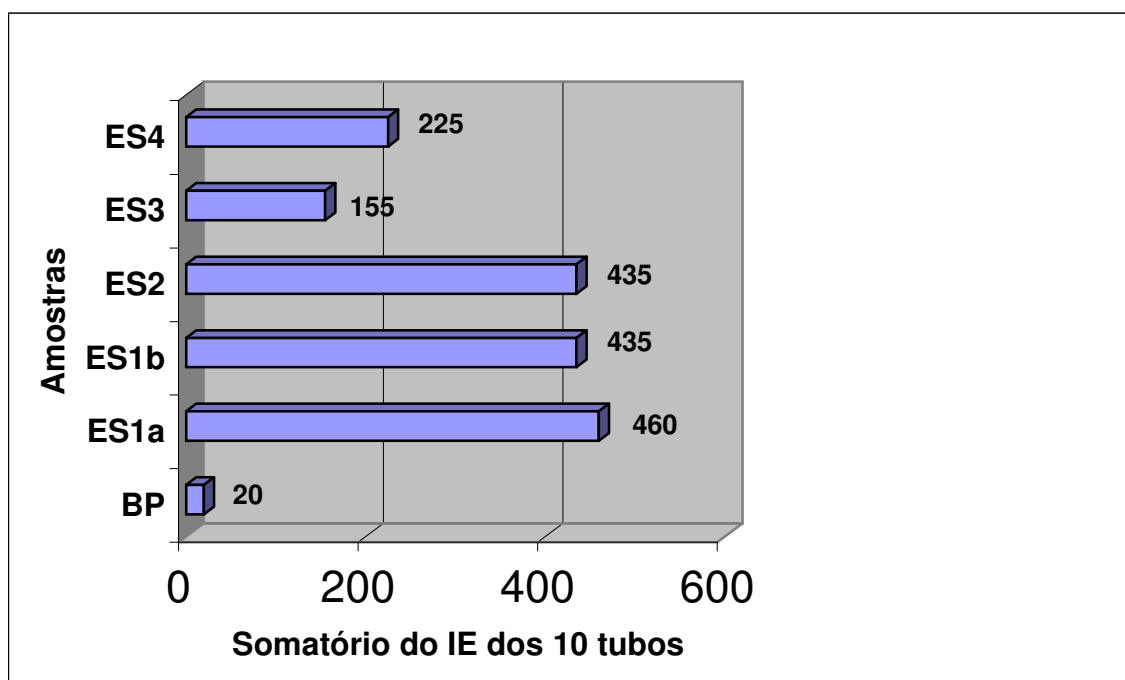
Em princípio, o maior número de bandas observadas com a amostra BP se justifica, pois o extrato seco comercial de berinjela (ES1a a ES4) contém apenas os compostos que foram extraídos nas condições de sua produção, enquanto que as cápsulas contendo berinjela pulverizada, por se tratar de planta desidratada e moída (não sofrendo extração para sua produção), conterão todos os compostos que se mantiverem preservados neste processo. Assim, quando ambas as amostras são extraídas pelo metanol para a execução da cromatografia, é esperado que o extrato da amostra com berinjela pulverizada apresente maior quantidade de compostos extraíveis pelo metanol (e conseqüentemente maior número de bandas na cromatografia) que os extratos das amostras com extrato seco. Quanto à amostra ES3, deve-se levar em consideração que as diferenças em relação às outras amostras podem ter sido causadas pela presença do extrato de alcachofra, uma vez que se trata de um produto composto.

A diferente coloração observada nas placas após a revelação ocorreu devido ao tempo que decorreu entre a confecção da cromatografia e a digitalização da imagem. A cromatografia da figura 8 não foi digitalizada no dia que foi realizada, ao contrário do que ocorreu com a da figura 9B.

#### **6.1.6. Determinação do índice de espuma (IE)**

Analisando os resultados obtidos com este teste (tabela 02 da seção de anexos) podemos verificar que nenhum dos tubos das amostras apresentou índice de espuma superior a 80, nem mesmo os tubos com maior concentração de extrato. Se ordenarmos as amostras, de forma decrescente, pelos seus índices de espuma, teremos a seguinte classificação: ES1a, ES1b e ES2, ES4,

ES3 e BP. Pela figura 10 pode-se comparar o índice de espuma de cada amostra pelo somatório dos IEs obtidos nos dez tubos com concentrações crescentes de extrato seco.



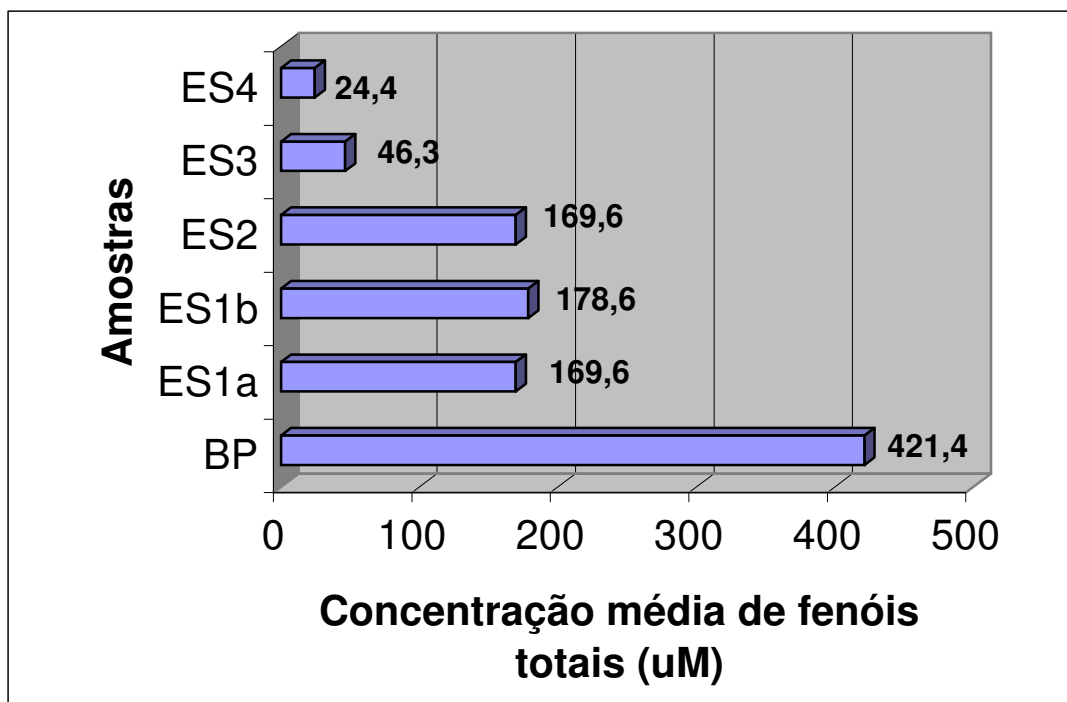
**FIGURA 10:** Comparação do somatório dos IE obtidos nos 10 tubos de cada uma das amostras comerciais de berinjela.

O índice de espuma é um método para a avaliação da presença de saponinas numa amostra (WHO, 1998). As saponinas, conforme citado por SCHENKEL<sup>2</sup> e colaboradores (2003), são compostos capazes de se complexar com esteróides, razão pela qual tem sido considerada sua atividade como hipocolesteremiante. O mecanismo desta atividade seria explicado pelo aumento da excreção de colesterol e sais biliares ao nível do duodeno devido a esta complexação. Logo, amostras com maior índice de espuma, teriam também maior concentração de saponinas e maior possibilidade de exercer atividade biológica.

Pelos resultados obtidos com as amostras comerciais de berinjela e considerando que o IE em alguns extratos pode ser maior que 1000 (WHO, 1998), pode-se afirmar que a presença de saponinas nestas amostras é pequena.

### 6.1.7. Dosagem de fenóis totais

Como pode ser visto na figura 11, a concentração em fenóis totais nas amostras variou de 24,4  $\mu\text{M}$  (amostra ES4) a 421,4  $\mu\text{M}$  (amostra BP). A curva de calibração obtida para o cálculo das concentrações de fenóis totais, as leituras das amostras e dos padrões se encontram no quadro 03 da seção de Anexos.



**FIGURA 11:** Concentração média de fenóis totais de três determinações em amostras comerciais de berinjela.

Esta determinação foi realizada com o objetivo de comparar as amostras quanto ao seu teor de fenóis totais, uma vez que estas substâncias são possivelmente responsáveis por muitas das atividades biológicas atribuídas à berinjela e também, devido à já descrita capacidade antioxidante destes compostos. A amostra que apresentou maior teor de fenóis totais (421,4  $\mu\text{M}$ ) foi a do produto com berinjela pulverizada (BP), já entre as amostras à base de extrato seco, a que apresentou maiores resultados foi a ES1b (178,6  $\mu\text{M}$ ).

## 6.2. ANÁLISE DO POTENCIAL DE INTERFERÊNCIA *in vitro*

### 6.2.1. Considerações iniciais

Para este experimento, foi selecionado o produto que apresentou nos testes preliminares, maior concentração de extrato solúvel em relação ao resíduo insolúvel, maior teor em polifenóis totais e maior número de bandas na cromatografia em camada delgada. Levou-se também em consideração a forma farmacêutica mais comumente encontrada no mercado. Assim, o produto selecionado foi o extrato seco ES1b.

Embora o produto com berinjela pulverizada (BP), tenha apresentado maiores resultados em relação ao teor de fenóis totais e ao número de bandas reveladas na CCD, considerou-se que este tipo de preparado não deveria ser o mais utilizado pela população, uma vez que, entre os produtos disponíveis no comércio local, somente uma marca de cápsulas contendo berinjela pulverizada foi encontrada.

A escolha do procedimento adotado nos testes de interferência foi baseada em protocolos internacionais. Estes preconizam que testes de interferência em exames devem ser realizados primeiramente *in vitro* - pois o conhecimento prévio da interferência analítica deve anteceder os estudos dos efeitos biológicos - e com concentrações elevadas da substância em teste (dose tóxica ou supraterapêutica). Quando detectada interferência nesta concentração, um experimento de validação deve ser efetuado com a concentração terapêutica do fármaco. A concentração do analito no “pool” de soro em teste deve ser próxima ao nível que exigiria uma decisão clínica do médico, ou seja, próxima ou fora dos limites dos valores de referência (GALTEAU & SIEST, 1984; SONNTAG & SCHOLER, 2001).

Optou-se pelo uso de soro calibrador comercial em nível patológico, pois além de ser uma das amostras sugeridas para testes de interferência *in vitro* pelos critérios de GALTEAU & SIEST (1984), este apresenta concentrações elevadas dos analitos. Teve-se que considerar que o risco de não encontrar doadores humanos com níveis elevados dos analitos em teste, dispostos a se



submeter à colheita de grande quantidade de amostra (utilizou-se neste trabalho cerca de 1,5 litro de soro) poderia inviabilizar o projeto.

Embora a mesma marca de soro calibrador tenha sido utilizada em todas as etapas, não foi possível conseguir o mesmo lote utilizado na primeira para as demais. Isto ocorreu devido a grande quantidade de soro necessária para a obtenção das concentrações terapêuticas, uma vez que, para se garantir a acurácia necessária na pesagem da pequena quantidade de extrato seco (e de quercetina) a ser acrescentada ao soro, maiores volumes deste foram requeridos.

Assim, a primeira etapa foi realizada com um lote de soro calibrador (SP1), para as outras três, utilizaram-se outros lotes do soro calibrador - o mesmo para a segunda e terceira etapa (SP2) e um terceiro para a quarta etapa (SP3). A cada etapa realizou-se o doseamento do soro calibrador puro (SP) - sem adição das substâncias em teste - e seus resultados foram utilizados como valor basal e comparados aos valores obtidos com as demais amostras.

Quanto ao propósito da preparação das amostras observa-se o seguinte:

- a) Ao SP1, SP2 e SP3 nada foi adicionado. Estas amostras serviram como valor basal para comparação com as outras amostras acrescentadas de extrato seco ou de outras substâncias.
- b) As amostras de soro acrescentadas de extrato seco em dose supratrapêutica ( $SE_{st}$ ), soro acrescentadas de extrato seco tratado em dose supratrapêutica ( $SET_{st}$ ), soro acrescentadas de extrato seco em dose terapêutica ( $SE_t$ ) e soro acrescentadas de extrato seco tratado em dose terapêutica ( $SET_t$ ) foram preparadas para verificação do efeito interferente do extrato seco nas determinações.
- c) Amostras de soro acrescentadas de quercetina em dose supratrapêutica ( $SQ_{st}$ ) e terapêutica ( $SQ_t$ ) foram preparadas

para verificação de possível ação interferente de um único flavonóide (quercetina), que também tem atividade antioxidante.

- d) O soro com amido em concentração supraterapêutica ( $SA_{st}$ ) foi preparado para servir de controle negativo ao soro acrescentado de extrato seco em dose supraterapêutica ( $SE_{st}$ ), uma vez que foi verificado que o amido está presente em grande quantidade no extrato seco de berinjela utilizado (item 6.1.4).
- e) O soro com etanol/salina ( $CQ_{st}$ ) foi preparado para servir de controle ao  $SQ_{st}$ , uma vez que, diferente do extrato seco e do amido, que foram adicionados diretamente no soro, a quercetina foi previamente dissolvida em etanol e diluída em salina antes de ser adicionada ao soro (350  $\mu$ L da solução foram adicionados aos 10 mL de soro). Este controle teve o objetivo de compensar a diluição da amostra e/ou de monitorar uma eventual interferência do etanol presente na solução de quercetina adicionada ao soro (SQ).
- f) O  $BA_{st}$  foi preparado para avaliação da interferência produzida por eventual aumento da coloração do soro produzida pela adição de extrato seco na concentração supraterapêutica.

As concentrações consideradas neste trabalho como “terapêuticas” para a quercetina (52 nM) foram obtidas a partir da literatura (ERLUND *et al.*, 2002). Considerando, entretanto, a inexistência de estudos farmacocinéticos em relação a extratos de berinjela, tentou-se estimar a partir da dose terapêutica indicada pelo fabricante das cápsulas (640 mg/dose) e considerando-se absorção rápida e total dos componentes e a volemia média de um indivíduo adulto (5000 mL), a concentração que se poderia atingir no sangue. Esta concentração foi estimada em 0,128 mg/mL e a partir deste valor foram calculadas as quantidades de extrato que se deveriam adicionar às amostras de soro para obter concentrações aproximadas àquelas consideradas como “terapêuticas”. Para as concentrações supraterapêuticas, foi utilizado o fator 10, conforme indicação dos protocolos de avaliação de interferências *in vitro*

(GALTEAU & SIEST, 1984). Para o extrato tratado, o cálculo das concentrações terapêuticas e supraterapêuticas foi feito em relação ao resíduo obtido após a liofilização de duas cápsulas de extrato submetido à simulação de digestão gástrica.

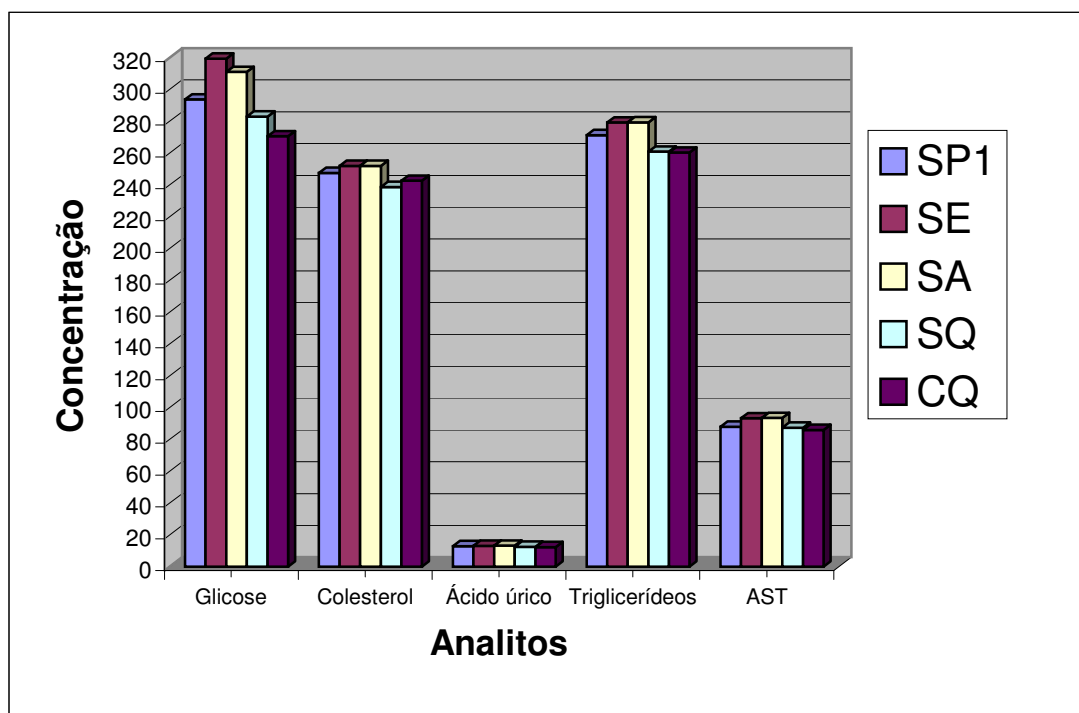
Como não se sabe ao certo como os processos digestivos podem interferir na absorção de flavonóides e/ou em sua atividade posterior (ver item 3.2.3), optou-se pela preparação de um extrato (SET) onde se procurou mimetizar o efeito que a digestão ácida produziria sobre os componentes do extrato. A metodologia adotada foi baseada em um trabalho de GIL-IZQUIERDO e colaboradores (2001). Estes autores propuseram uma simulação *in vitro* do processo digestivo para estudos de biodisponibilidade dos flavonóides do suco de laranja.

Considerou-se também o estudo de MIYAZAWA e colaboradores (1999), que demonstrou que antocianinas são incorporadas ao plasma humano sem alterações estruturais, sugerindo que a absorção de antocianinas não depende de prévia hidrólise enzimática por enzimas digestivas ou por ação de bactérias intestinais. Com base neste estudo, optou-se pela não mimetização da digestão enzimática (com pepsina, enzimas pancreáticas e sais biliares) e igualmente pela não utilização da etapa de simulação da absorção usando tubos de diálise, propostas por GIL-IZQUIERDO e colaboradores (2001).

### **6.2.2. Primeira etapa de testes: extrato não tratado e concentrações supraterapêuticas**

Os resultados desta etapa são apresentados no quadro 6 (seção de Anexos) e na figura 12.

A análise da variância foi realizada comparando-se os vários grupos em relação a cada analito. A maior significância estatística foi obtida para a **glicose** (tabela 3), sendo que houve diferença significativa entre todos os grupos, com um valor de F correspondente a 343,21 ( $p < 0,0001$ ). Para confirmar a significância, foi realizado o teste de Scheffé (tabela 4), que também apontou significância estatística ( $p < 0,01$ ) entre todos os grupos.



**FIGURA 12:** Análise do efeito interferente da concentração supraterapêutica do extrato seco de berinjela sem prévio tratamento. Gráfico comparativo das concentrações obtidas nas determinações de: glicose, colesterol, ácido úrico, triglicerídeos e AST; nas diferentes amostras testadas na primeira etapa dos testes de interferência *in vitro*.

**TABELA 3:** Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de **glicose** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	12705,77	4	3176,44	343,21 (p<0,0001)
Dentro de grupos	323,93	35	9,255	
Total	13029,7	39		

**TABELA 4:** Comparações individuais pelo teste de Scheffé (p<0,01) para os resultados médios de **glicose** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ extrato seco (SE <sub>st</sub> )	319,3
Soro c/ amido (SA <sub>st</sub> )	310,9
Soro puro (SP1)	293,6
Soro c/ EtOH quercetina (SQ <sub>st</sub> )	283,0
Soro c/ EtOH salina (CQ <sub>st</sub> )	270,5

Obs.: Houve diferença estatística entre todos os grupos.

O branco de amostra ( $BA_{st}$ ) realizado nesta etapa de testes não apresentou leitura de absorvância no comprimento de onda de nenhum dos métodos realizados, mostrando que as variações encontradas entre as amostras adicionadas de extrato ou controles e o soro puro não podem ser justificadas por mudança produzidas na coloração da amostra.

A adição ao soro, tanto de amido ( $SA_{st}$ ), como de extrato seco não tratado ( $SE_{st}$ ) levaram a uma interferência positiva para este analito, sendo que essa interferência foi estatisticamente maior para o extrato seco que para o amido.

Já a adição ao soro de quercetina ( $SQ_{st}$ ) ou da mistura etanol/salina ( $CQ_{st}$ ) provocou uma interferência negativa em relação ao soro puro (SP1). A diferença em relação à concentração determinada de glicose entre o soro adicionado de quercetina e seu controle também foi estatisticamente significativa, sendo a interferência maior para o controle que para a quercetina.

Considerando a presença de flavonóides no extrato de berinjela, uma interferência negativa seria esperada já que, conforme a literatura, antioxidantes podem interferir por vários mecanismos em reações de óxido-redução (ver item 3.3.2 e quadro 4 na seção de anexos), diminuindo a concentração do produto corado (o qual é proporcional à concentração do analito em teste). A interferência positiva encontrada para o extrato seco poderia ser explicada, pelo menos em parte, pela presença de amido (em grande quantidade no extrato) que pode ser hidrolisado pela amilase sérica, levando à formação de glicose como um dos produtos (CAMPBELL, 2001). O fato de o extrato seco ter apresentado uma interferência maior que a do amido sugere que, além desta substância, outros fatores poderiam estar envolvidos. Uma possibilidade neste sentido seria a presença de outros excipientes. Em princípio, a presença de amido no extrato ficou comprovada em nossos testes preliminares, mas outros eventuais adjuvantes não chegaram a ser identificados.

A interferência negativa verificada para a solução de quercetina adicionada ao soro poderia ser explicada pelo seu potencial antioxidante, entretanto a interferência verificada para o controle ( $CQ_{st}$ ) foi maior do que a da quercetina ( $SQ_{st}$ ). Isto indica que a interferência provocada pela mistura etanol/salina

(1:25, v/v), usada como veículo para o flavonóide, superou a interferência da quercetina propriamente dita. Para a preparação das amostras SQ<sub>st</sub> e CQ<sub>st</sub>, houve uma pequena diluição da amostra de soro original, já que 10,0 mL de soro foram adicionados de 0,35 mL de solução de quercetina em etanol/salina ou do veículo. A variação percentual no teor de glicose entre SP1 e SQ<sub>st</sub> foi de aproximadamente 3,7% enquanto entre SP1 e CQ<sub>st</sub> foi de 8,5%. O fator de diluição do soro foi de 3,5%, de modo que apenas a diluição da amostra não explicaria o efeito interferente verificado em CQ. Uma possibilidade seria do efeito ser causado pela presença de etanol, que segundo HOLME & PECK (1993) pode reagir com o peróxido de hidrogênio, consumindo-o na produção de acetaldeído e água.

Em relação ao **colesterol**, a análise de variância apresentou menor significância estatística (tabela 5), sendo que na confirmação pelo teste de Scheffé (tabela 6), encontrou-se equivalência estatística entre os grupos SA<sub>st</sub>, SE<sub>st</sub>, SP1 e CQ<sub>st</sub>, além de equivalência estatística entre os três últimos e SQ<sub>st</sub>. Em outras palavras, apenas o soro adicionado de quercetina (SQ<sub>st</sub>) e o soro adicionado de amido (SA<sub>st</sub>) apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) nesse teste.

**TABELA 5:** Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de **colesterol** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	1093,37	4	273,34	6,00 ( $p=0,0009$ )
Dentro de grupos	1594,10	35	45,546	
Total	2687,47	39		

**TABELA 6:** Comparações individuais pelo teste de Scheffé ( $p < 0,05$ ) para os resultados médios de **colesterol** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA <sub>st</sub> )	252,0
Soro c/ extrato seco (SE <sub>st</sub> )	251,8
Soro puro (SP1)	247,4
Soro c/ EtOH salina (CQ <sub>st</sub> )	242,5
Soro c/ EtOH quercetina (SQ <sub>st</sub> )	238,6

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

Em relação ao **ácido úrico**, a análise de variância (tabela 7) indicou diferença entre os grupos, com valor de F igual a 84,64 ( $p < 0,0001$ ). A confirmação pelo teste de Scheffé (tabela 8) apontou equivalência estatística entre SA<sub>st</sub> e SE<sub>st</sub>, além de equivalência entre SE<sub>st</sub> e SP1. Desta forma, comprovaram-se diferenças estatisticamente significativas entre a amostra de soro patológico SP1 e as amostras adicionadas de amido (SA<sub>st</sub>), quercetina (SQ<sub>st</sub>) e o controle da quercetina (CQ<sub>st</sub>). O soro adicionado de quercetina (SQ<sub>st</sub>) e seu controle (CQ<sub>st</sub>) também foram significativamente diferentes entre si. Neste ensaio, o soro adicionado de extrato (SE<sub>st</sub>) foi o único grupo experimental que não se diferenciou estatisticamente de SP1. Em relação à interferência negativa verificada para a quercetina e a mistura etanol/salina, o efeito da diluição (3,5%) poderia explicar a redução do teor em SQ<sub>st</sub> (2,9% menor que SP1), mas não em CQ<sub>st</sub> (5,6% menor que SP1). Novamente poderíamos supor que o efeito poderia ter sido produzido pelo etanol.

**TABELA 7:** Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de **ácido úrico** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	4,7759	4	1,194	84,64 ( $p < 0,0001$ )
Dentro de grupos	0,4937	35	0,00141	
Total	5,2697	39		

**TABELA 8:** Comparações individuais pelo teste de Scheffé ( $p < 0,01$ ) para os resultados médios de **ácido úrico** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA <sub>st</sub> )	13,12
Soro c/ extrato seco (SE <sub>st</sub> )	12,97
Soro puro (SP1)	12,85
Soro c/ EtOH quercetina (SQ <sub>st</sub> )	12,49
Soro c/ EtOH salina (CQ <sub>st</sub> )	12,17

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

A análise de variância nas determinações da **aspartato transaminase** (tabela 9) apontou diferença significativa entre grupos, com valor de F igual a 165,76 ( $p < 0,0001$ ), sendo que na confirmação pelo teste de Scheffé (tabela 10), verificou-se equivalência estatística entre SA<sub>st</sub> e SE<sub>st</sub>, bem como entre

SP1, CQ<sub>st</sub> e SQ<sub>st</sub>. Desta maneira, comprovou-se para o soro adicionado de extrato (SE<sub>st</sub>), uma diferença estatisticamente significativa em relação a SP1 e aos demais controles, com exceção do controle com amido (SA<sub>st</sub>). O esperado seria uma interferência negativa, considerando-se a possibilidade de inibição enzimática por flavonóides ou outros constituintes. Neste caso, a interferência provavelmente não está relacionada a componentes do extrato, já que o soro adicionado de amido apresentou interferência da mesma ordem que SE<sub>st</sub>.

Embora este resultado tenha relevância estatística, este não tem relevância clínica, pois o coeficiente de variação analítica para enzimas é da ordem de 20%, ou seja, para que possamos concluir que resultados de AST de duas determinações realizadas com a mesma amostra sob as mesmas condições são diferentes, seus valores devem ter variação superior a 20%. Este valor é calculado levando-se em conta os erros analíticos sistemáticos e aleatórios inerentes a toda a determinação bioquímica (MARSHALL, 1995 e LABTEST, 1998).

Temos que considerar que as alterações nos níveis séricos de um analito em um indivíduo que consumiu extrato seco de berinjela só pode ser confirmado por um outro exame com resultados diferentes, portanto são necessárias amostras colhidas em dias diferentes. Entre duas determinações, realizadas em amostras diferentes do mesmo paciente tem-se que considerar a variação biológica e analítica do teste para poder concluir com certeza sobre se os resultados são mesmo diferentes ou se a diferença deve-se simplesmente às variações intrínsecas do método de determinação ou do paciente. Assim, resultados muito próximos entre si, embora estatisticamente diferentes, poderão ser considerados semelhantes quando analisados através dos coeficientes de variação (RAVEL, 1997; LABTEST, 1998).

Considerando-se somente a variação analítica aceita para a AST (20%) e calculando-se a variação entre SE<sub>st</sub>/SA<sub>st</sub> e SP1, tem-se menos de 10% de variação, ou seja, metade da variação analítica aceitável entre duas determinações com a mesma amostra; assim podemos concluir que esta variação certamente não seria levada em consideração pelo médico, se se



tratasse de resultados de um paciente. Além disso, é mais provável que essa tenha ocorrido em função de erros analíticos que por influência do amido que era comum as duas amostras.

Como vimos, a interferência positiva verificou-se para SA<sub>st</sub> e SE<sub>st</sub> em relação a SP1, mas em relação a quercetina e seu controle não houve interferência significativa, embora mais uma vez a média de ambos os grupos SQ<sub>st</sub> e CQ<sub>st</sub> tenha sido inferior à de SP1, sendo a diferença maior entre CQ<sub>st</sub> e SP1.

**TABELA 9:** Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de **aspartato transaminase (AST/TGO)** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	1512,461	4	378,1154	165,76 (p<0,0001)
Dentro de grupos	79,83755	35	2,281073	
Total	1592,299	39		

**TABELA 10:** Comparações individuais pelo teste de Scheffé (p<0,01) para os resultados médios de **aspartato transaminase (AST/TGO)** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA <sub>st</sub> )	136,7
Soro c/ extrato seco (SE <sub>st</sub> )	136,3
Soro puro (SP1)	124,9
Soro c/ EtOH quercetina (SQ <sub>st</sub> )	124,5
Soro c/ EtOH salina (CQ <sub>st</sub> )	122,8

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

Finalmente, para os **triglicerídeos**, a análise de variância (tabela 11) também apontou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sendo que pelo teste de Scheffé (tabela 12) comprovou-se que o soro calibrador patológico (SP1) diferiu significativamente de todos os demais grupos, enquanto para SA<sub>st</sub> e SE<sub>st</sub>, bem como SQ<sub>st</sub> e CQ<sub>st</sub> entre si, verificou-se equivalência estatística. Na determinação deste analito, tanto a adição de extrato de berinjela, como de amido e de quercetina levaram a interferências estatisticamente significativas. Novamente, as interferências foram positivas para o extrato seco e o amido e negativas para a quercetina e seu controle. Em relação a SP1, a adição de quercetina e etanol/salina apresentaram diminuição na concentração

de triglicerídeos da ordem de 4,0 e 4,2% respectivamente, ou seja, um pouco maior que o fator de diluição (3,5%).

**TABELA 11:** Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de **triglicerídeos** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	2805,551	4	701,3878	90,54 ( $p < 0,0001$ )
Dentro de grupos	271,1256	35	7,7464	
Total	3076,677	39		

**TABELA 12:** Comparações individuais pelo teste de Scheffé ( $p < 0,01$ ) para os resultados médios de **triglicerídeos** obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA <sub>st</sub> )	279,24
Soro c/ extrato seco (SE <sub>st</sub> )	279,12
Soro puro (SP1)	271,23
Soro c/ EtOH quercetina (SQ <sub>st</sub> )	260,79
Soro c/ EtOH salina (CQ <sub>st</sub> )	260,21

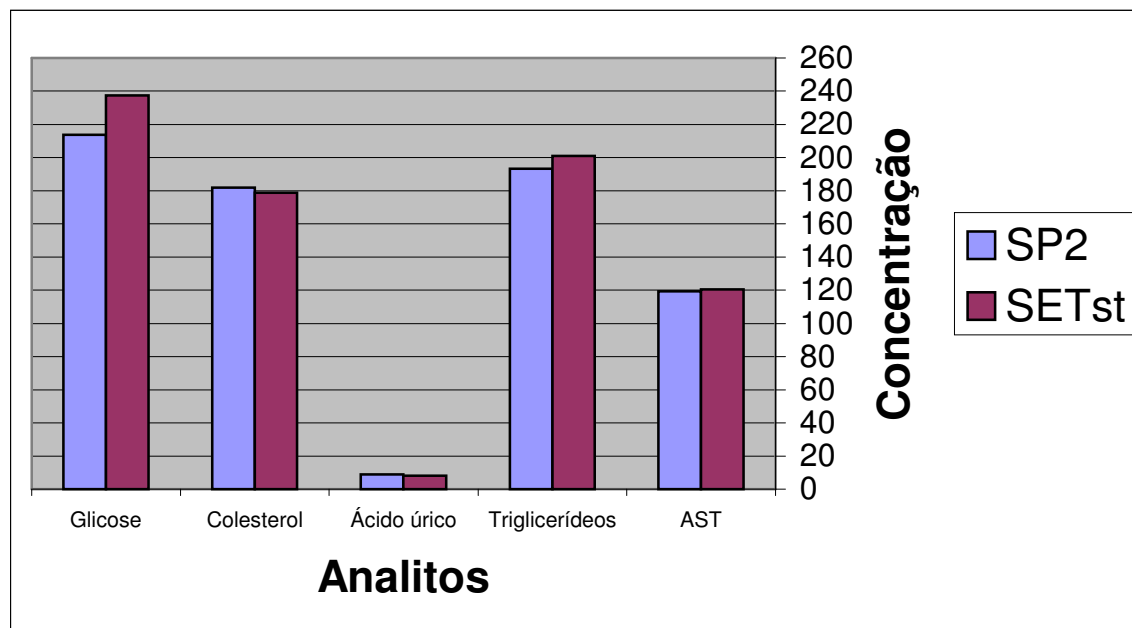
Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

### 6.2.3. Segunda etapa de testes: extrato tratado e concentrações supratherapêuticas

Nesta etapa, foram testadas amostras de soro adicionadas de extrato tratado (simulação de digestão gástrica e posterior liofilização). Os resultados dessa etapa estão no quadro 7 (seção de Anexos) e representados na figura 13. A análise estatística dos dados (tabela 13) foi realizada pelo teste *t* de Student e, no caso do colesterol, complementada pelo teste de Mann-Whitney.

Nessa etapa de testes, as diferenças foram estatisticamente significativas para glicose, colesterol, ácido úrico e triglicerídeos. Para o **colesterol**, pela variabilidade verificada, o programa estatístico utilizado sugeriu confirmação pelo teste de Mann-Whitney, cujo resultado ( $U = 12,5$  e  $U' = 62,5$ ) corroborou a significância estatística da diferença entre o soro tratado (SET<sub>st</sub>) e o controle SP2 ( $p = 0,0283$ ). Clinicamente, entretanto, esta diferença não pode ser considerada relevante, já que pelo coeficiente de variação analítica para as dosagens de colesterol, só podem ser considerados diferentes resultados com

diferença superior a 10% (LABTEST, 1998) e as diferenças verificadas foram inferiores a 2%.



**FIGURA 13:** Análise do efeito interferente da concentração supratrapêutica do extrato seco de berinjela após tratamento – mimetização do processo de digestão. Gráfico comparativo das concentrações obtidas nas determinações de: glicose, colesterol, ácido úrico, triglicerídeos e AST; em amostra de soro calibrador puro (SP<sub>2</sub>) e com extrato seco tratado. Segunda etapa dos testes de interferência *in vitro*.

**TABELA 13:** Comparação dos valores encontrados no teste *t* para os diferentes analitos no soro puro (SP<sub>2</sub>) e no soro adicionado de extrato de berinjela submetido a tratamento.

Analito	Concentração determinada no soro tratado (SET <sub>st</sub> )	Concentração determinada no soro (SP <sub>2</sub> )	Valor do teste	p (significância para p<0,05)
Colesterol	178,75	182	2,66	0,0186
Glicose	237,3	213,9	19,34	< 0,0001
Ácido úrico	8,20	8,85	3,59	0,030
Triglicerídeos	201	193,5	3,35	0,0047
TGO	120,37	119,12	1,46	0,1649 (NS)

Para a **glicose**, tal como para o extrato não tratado, verificou-se interferência positiva significativa. No tratamento realizado simulando a digestão gástrica, as condições experimentais podem ter propiciado hidrólise ácida do

amido, dando como um dos produtos desta hidrólise a glicose. Além disso, a hidrólise do amido pode também ter ocorrido pela ação da amilase sérica (TASTALDI, 1971). É possível que um destes mecanismos tenha contribuído para o aumento nas concentrações de glicose que foram detectadas em relação ao soro calibrador SP2.

Para o **ácido úrico** no soro com extrato tratado, houve interferência negativa, estatisticamente significativa, enquanto para o soro com extrato não tratado a interferência não foi significativa na confirmação pelo teste de Scheffé. A simulação de digestão gástrica deve ter levado a hidrólise também de outras substâncias, além do amido, de modo que os produtos formados poderiam: a) ter sido responsáveis pela inibição de enzimas (uricase ou peroxidase) envolvidas no doseamento; b) ter reagido com o peróxido de hidrogênio nas condições do ensaio, diminuindo a concentração de quinonimina formada, c) desestabilizar o cromógeno formado. Estas hipóteses são aquelas citadas na literatura como possibilidades mais plausíveis de interferência analítica para o ácido ascórbico em reações envolvendo óxido-redução (ver item 3.3.2).

De acordo com SEERAM E NAIR (2002), antocianidinas (agliconas) têm maior atividade antioxidante em relação às respectivas antocianinas (heterosídeos), sendo que entre 10 pigmentos antociânicos testados, a delfinidina (aglicona da nasunina) foi o que apresentou maior potencial antioxidante, sendo inclusive superior ao da vitamina E. Se considerarmos que a hidrólise ácida, ao menos em parte, pode ter hidrolizado a nasunina, produzindo delfinidina, e considerando que esta apresente efeito superior ao da sua antocianina, então podemos justificar a não observação do efeito interferente negativo no soro com extrato seco na primeira etapa de testes e o aparecimento da interferência após o tratamento do extrato.

Além disso, a reação do ácido úrico parece ser mais susceptível a interferência de agentes redutores que a dos outros analitos. Isso pode ser concluído pela análise de estudos, como os de RODRIGUES e colaboradores (1997) e SILVA e colaboradores (1999) que avaliaram a interferência da

vitamina C na determinação de diversos analitos, encontrando os maiores resultados de interferência no teste do ácido úrico. Isto talvez possa ser explicado por uma menor eficácia do acoplador comumente usado nesta reação (inclusive pela BIOBRÁS S. A.), o DHBS (3,5 dicloro-2-hidrobenzosulfônico) em relação aos acopladores utilizados nos demais testes.

Para os **triglicerídeos** no soro tratado (SET<sub>st</sub>) houve interferência positiva, estatisticamente significativa, da mesma forma que para o extrato não tratado. Em termos percentuais, a interferência foi maior para o extrato tratado (+3,9%) que para o não tratado (+2,9%), entretanto em ambos os casos, a significância clínica destas interferências é irrelevante com base na variação analítica que é de 9% (LABTEST, 1998).

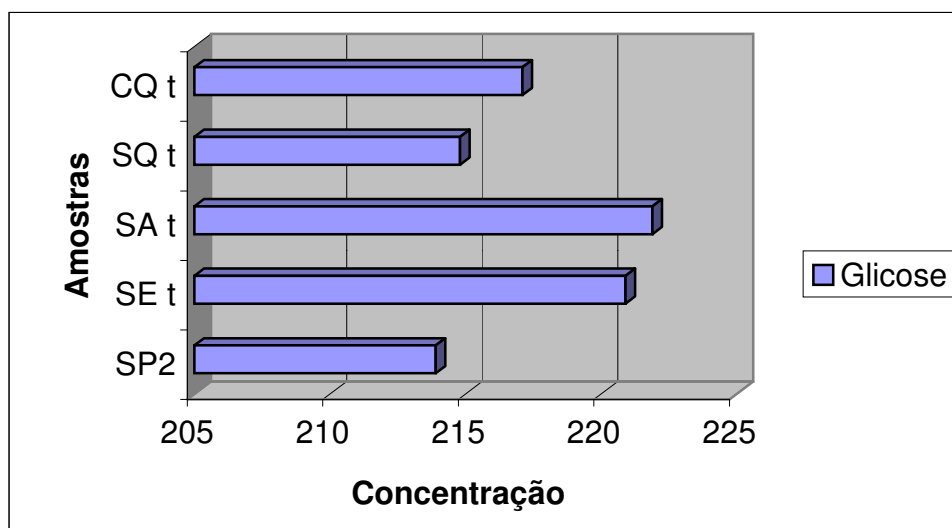
#### **6.2.4. Terceira etapa dos testes de interferência *in vitro*: extrato não tratado em concentração terapêutica**

Nessa etapa, avaliou-se a interferência de extrato de berinjela não tratado e quercetina em concentrações correspondentes, aproximadamente, àquelas que seriam encontradas pela ingestão de cápsulas de berinjela na dose indicada pelo fabricante ou alimentos ricos em quercetina.

Na primeira etapa do teste, em concentrações supraterapêuticas, vários analitos apresentaram interferências estatisticamente significativas, mas em muitos casos, tais interferências analíticas ocorriam também para algum dos controles utilizados (amido ou controle de quercetina). Assim, não necessariamente essas interferências poderiam ser atribuídas a componentes da berinjela ou à própria quercetina.

Assim sendo, para a terceira etapa testou-se apenas a potencial interferência de extrato seco não tratado ou da quercetina em “concentração terapêutica” na determinação da **glicose**, já que apenas nesta última o extrato de berinjela não tratado e o amido adicionados às amostras de soro tiveram resultados estatisticamente diferentes do soro calibrador patológico, ou seja, a interferência maior ocorreu no soro com extrato seco. Estes resultados estão representados na figura 14 e no quadro 8 (seção de anexos).

A análise de variância (tabela 14) destes resultados apontou uma diferença estatística significativa entre os grupos testados, com um valor de  $F = 18,30$  ( $p < 0,0001$ ). A comparação dos resultados pelo teste de Scheffé (tabela 15) confirmou equivalência entre  $SA_t$  e  $SE_t$ , bem como entre os demais grupos.



**FIGURA 14:** Análise do efeito interferente da concentração terapêutica do extrato seco de berinjela na determinação de glicose com as diferentes amostras analisadas. Terceira etapa dos testes de interferência *in vitro*.

**TABELA 14:** Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de **glicose** obtidos, para os cinco grupos experimentais da terceira etapa.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	393,15	4	98,29	18,30 ( $p < 0,0001$ )
Dentro de grupos	187,93	35	5,37	
Total	581,08	39		

**TABELA 15:** Comparações individuais pelo teste de Scheffé ( $p < 0,05$ ) para os resultados médios de **glicose** obtidos, para os cinco grupos experimentais da terceira etapa.

Grupos	Média
Soro c/ amido ( $SA_t$ )	221,54
Soro c/ extrato seco ( $SE_t$ )	221,04
Soro c/ EtOH salina ( $CQ_t$ )	217,08
Soro c/ EtOH quercetina ( $SQ_t$ )	214,83
Soro puro ( $SP2$ )	213,88

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

Assim, para o soro adicionado de extrato seco de berinjela (não tratado), em concentração “terapêutica”, houve interferência positiva significativa na determinação de glicose, sendo que interferência no mesmo nível foi comprovada também para o amido. Diferença desta ordem poderia ter significância clínica, para pacientes cuja glicemia se encontrasse muito próxima aos limites de referência. Também neste caso, é provável que a interferência positiva verificada se deva à hidrólise do amido pela amilase contida na amostra de soro.

Para as amostras de soro adicionadas de quercetina, atingindo concentrações correspondentes àquelas consideradas terapêuticas (52 nM), conforme ERLUND e colaboradores (2002), a determinação de glicose não apresentou valores diferentes estatisticamente do soro calibrador utilizado (SP2).

#### **6.2.5. Quarta etapa dos testes de interferência *in vitro*: extrato tratado em concentração terapêutica**

Nessa etapa, foram determinados glicose, ácido úrico e triglicerídeos no soro adicionado de extrato de berinjela tratado em concentrações terapêuticas estimadas, e no soro patológico controle (SP3). Os resultados encontram-se no quadro 9 (seção de Anexos) e na figura 15.

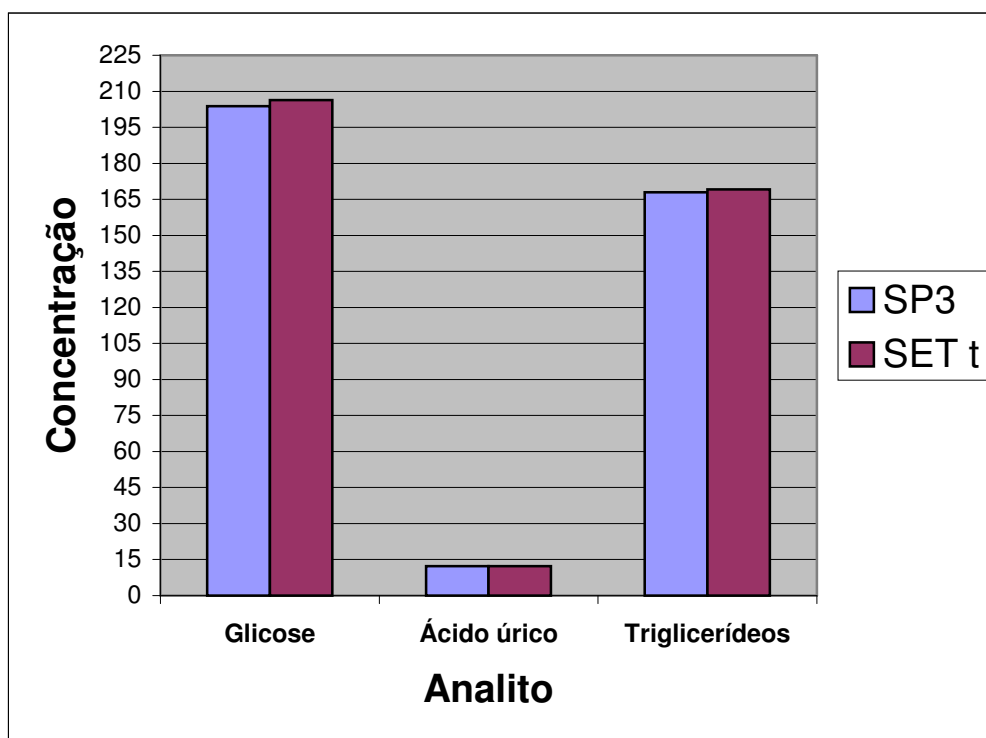
A determinação do colesterol não foi incluída nesta fase uma vez que a interferência analítica detectada em concentrações supratrapêuticas de extrato ( $p < 0,05$ ) não apresentava significância clínica. Porém, embora também não apresentasse significância clínica, a interferência verificada para os triglicerídeos foi estatisticamente mais relevante ( $p < 0,01$ ) e então, decidiu-se incluir este analito nesta fase dos testes. A análise estatística dos resultados pelo teste  $t$  (tabela 16) não apontou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, ao contrário do que se verificou para o extrato tratado, em concentrações supratrapêuticas, na segunda etapa.

Observou-se significância estatística para a glicose ( $p=0,036$ ), porém esta interferência não pode ser considerada clinicamente significativa, pois esta

variação encontrada entre SP3 e SET  $t$  (1,2%) é muito inferior à variação analítica aceita para este analito (10%).

**TABELA 16:** Comparação dos valores encontrados no teste  $t$  para os diferentes analitos no soro puro (SP3) e no soro adicionado de extrato de berinjela submetido a tratamento.

Analito	Concentração determinada no soro tratado (SET $t$ )	Concentração determinada no soro (SP2)	Valor do teste	p (significância para $p < 0,05$ )
Glicose	206,29	203,83	2,16	0,036
Ácido úrico	12,28	12,17	1,06	0,294 (NS)
Triglicerídeos	169,08	168,04	1,38	0,174 (NS)



**FIGURA 15:** Análise do efeito interferente da concentração terapêutica do extrato seco de berinjela tratado nas determinações de glicose, ácido úrico e triglicerídeos. Quarta etapa dos testes de interferência *in vitro*.



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como pode ser visto no item 6,1, as amostras de extrato seco mais claras no teste de comparação macroscópica do conteúdo das cápsulas (ES3 e ES4) foram as que apresentaram menores resultados em todos os testes realizados. Isto pode sugerir que estes produtos teriam também menor chance de proporcionar efeitos farmacológicos, além de ser uma indicação da falta de padronização na produção industrial de extratos secos.

Outro indicativo da necessidade de maior atenção na produção de extratos secos é o fato das cápsulas contendo berinjela pulverizada (BP) terem apresentado resultados superiores aos dos extratos secos na maioria dos testes. Uma vez que extratos secos são produzidos a partir da planta fresca que é submetida a processos industriais, que envolvem extração, purificação, secagem, etc (SONAGLIO *et al.*, 2003), seria esperado que em relação à planta fresca, esses contivessem maiores concentrações de determinadas substâncias, especialmente daquelas, que segundo a literatura científica, poderiam ser capazes de exercer algum efeito biológico, como é o caso dos flavonóides (ver item 3.2.2). Como observado, a amostra do produto com planta moída apresentou menor teor de saponinas, mas quase o dobro de fenóis totais que as amostras de extrato seco. Estes resultados podem indicar que, ou os solventes utilizados no processo de extração não são apropriados para extrair os flavonóides, ou estes são degradados durante o processo de produção industrial do extrato, ou ainda, a quantidade de excipientes adicionada aos extratos é muito grande.

De qualquer forma, faz-se necessário, por parte dos órgãos da saúde competentes, um maior controle sobre produtos à base de plantas disponível no

mercado, mesmo sobre aqueles vendidos como “complementos alimentares”, mas que de fato são utilizados pela população como medicamento.

Os resultados obtidos neste trabalho convidam à realização de novas pesquisas. Estas poderiam tanto utilizar outras metodologias para comparar os extratos comerciais de berinjela em relação à variáveis não objetivadas neste trabalho, como extratos secos de outras plantas, outras formas farmacêuticas de fitoterápicos. Isto poderia fornecer subsídios que contribuam para melhor padronização e garantia da qualidade dos produtos de origem vegetal industrializados.

Quanto aos ensaios de interferência *in vitro*, considerando os resultados obtidos neste estudo, pode-se sugerir que o extrato seco de berinjela, embora tenha apresentado potencial de interferência analítica significativa em algumas determinações séricas, não se pode afirmar com certeza que este o seja sob o ponto de vista clínico. Isto, porque as variações estatisticamente significativas que ocorreram principalmente nas concentrações “supraterapêuticas” estimadas, podem em alguns casos, estar dentro da faixa de variação analítica aceitável para os testes realizados (LABTEST, 1998). Além disto, observa-se que os resultados, mesmo estatisticamente diferentes entre si, não mudariam a atitude médica, uma vez que, do ponto de vista clínico, estes poderiam ser explicados pela variação biológica normal que ocorre nas concentrações das substâncias presentes no sangue (RAVEL, 1997).

Porém, uma vez que as concentrações testadas foram apenas estimadas, não se conhecendo de fato os dados relacionados à farmacocinética dos extratos de berinjela, não podemos concluir de forma definitiva em relação ao potencial de interferência de seus componentes. Outro aspecto é o fato de termos utilizado apenas uma única dose, como base de cálculo, para a preparação das amostras acrescentadas de extrato seco, não se levando em consideração a possibilidade de efeitos cumulativos do uso contínuo do produto.

Também, nada pode garantir que as reações de biotransformação, que podem ocorrer *in vivo* nos indivíduos que ingerem extrato seco de berinjela, ou

mesmo a fruta *in natura*, não contribuam para o aumento do potencial antioxidante dos componentes destes materiais e, portanto, ampliem a possibilidade de ocorrência de efeitos de interferência em exames.

Trabalhos como o de NIELSEN e colaboradores (2002) sugerem que antocianinas de frutas e vegetais são hidrolisadas antes da absorção. Berinjela não fez parte da dieta dos participantes deste estudo, porém como esta também não foi objeto de nenhum dos estudos encontrados sobre biodisponibilidade de flavonóides (ver item 3.2.3), não se sabe de que forma seus flavonóides são absorvidos, se como agliconas ou como glicosídeos.

Se os flavonóides da berinjela forem absorvidos na forma de agliconas, e sabendo-se que a principal é a delphinidina (SAKAMURA *et al.*, 1963), e ainda, considerando que no estudo de SEERAM & NAIR (2002) foi a delphinidina que apresentou maior atividade antioxidante, podemos sugerir que se tivesse sido testada a delphinidina como agente interferente, poderiam ter obtido resultados mais significativos que os obtidos para o extrato ou para a quercetina. Além disso, segundo NOROOZI e colaboradores (1998), a quercetina mostrou atividade antioxidante maior que a da vitamina C. Não foram encontrados estudos comparando os efeitos da delphinidina com a quercetina e com a vitamina C, mas não podemos descartar a possibilidade desta ter efeitos superiores aos obtidos com a quercetina neste estudo.

Outro fato é que o alto teor de excipientes nos extratos pode reduzir a proporção das substâncias “ativas” neste material em relação à outras formulações ou mesmo ao fruto *in natura*, portanto testes realizados com outros materiais poderiam dar resultados diferentes dos obtidos neste trabalho.

De qualquer modo, para concluir de forma mais definitiva quanto ao potencial de interferência analítica dos extratos de berinjela, seriam necessários estudos *ex vivo* com amostras de sangue de pacientes após ingestão de uma ou mais doses dos referidos extratos. Seria igualmente interessante testar outros tipos de preparações à base de berinjela, assim como alguns de seus constituintes isoladamente.

A complexidade de composição inerente aos produtos naturais e a ausência de dados farmacocinéticos foram fatores que dificultaram a aplicação do protocolo padrão para ensaios de interferência em exames, requerendo adaptações da metodologia na tentativa de adequá-la às peculiaridades desses produtos.

Assim, este trabalho foi, de certa forma, pioneiro no sentido de tentar estender a abrangência dos estudos de interferência em exames, os quais têm sido amplamente desenvolvidos em relação a fármacos sintéticos, como pode ser visto por trabalhos como o de SONNTAG & SCHOLER (2001), mas que ainda são insipientes em relação à plantas medicinais ou alimentos especiais. É possível que a proposta de metodologia aqui utilizada possa servir de apoio a estudos futuros de interferência em testes laboratoriais envolvendo outros xenobióticos.

## 8. CONCLUSÃO

Pelos testes de análise comparativa dos dados apresentados pelos fabricantes nas embalagens dos produtos à base de berinjela observou-se disparidade, principalmente em relação ao peso das cápsulas e posologia indicada; também se verificou disparidade em relação à aparência macroscópica do conteúdo das cápsulas, índice de espuma e teor de fenóis totais.

Quanto à solubilidade dos extratos, nenhum foi completamente solúvel em nenhum dos solventes utilizados. O resíduo insolúvel correspondeu a mais de 80 % para todas as amostras, sendo nele posteriormente caracterizada a presença de amido.

Na análise cromatográfica dos extratos metanólicos dos vários produtos testados, os cromatogramas mostraram-se semelhantes, mas não idênticos. Algumas bandas cromatográficas apareceram em umas amostras e não em outras ou diferiram em relação à intensidade da cor após revelação da placa.

A partir dos resultados obtidos, o produto selecionado para os testes de interferência *in vitro* foi o extrato seco ES1b.

Na **primeira etapa** dos testes de interferência *in vitro*, foi detectada interferência estatisticamente significativa para o extrato de berinjela *não tratado* em concentrações *supraterapêuticas* nas determinações de glicose, triglicerídeos e AST; para o soro adicionado de amido, também houve interferência nas determinações de glicose, triglicerídeos e AST, além do ácido úrico. Só houve diferenças significativas nas interferências causadas por amido e extrato seco em relação à glicose.

Para o soro acrescentado de *quercetina*, houve interferências significativas nas determinações de glicose, triglicerídeos e ácido úrico. O controle da quercetina diferiu significativamente do soro adicionado de quercetina apenas nas determinações de glicose e ácido úrico, apresentando resultados maiores.

Na **segunda etapa**, foi detectada interferência do soro *tratado* em concentrações *supraterapêuticas* nas determinações de glicose, colesterol, ácido úrico e triglicerídeos.

Na **terceira etapa**, pôde-se concluir que o extrato de berinjela *não tratado*, nas concentrações *terapêuticas* estimadas, apresentou interferência estatisticamente significativa na determinação de glicose, a qual não diferiu significativamente da interferência do amido. Para a *quercetina* em concentrações *terapêuticas* não foi verificada interferência significativa em relação ao soro calibrador patológico nem ao seu controle (veículo etanol/salina).

Na **quarta etapa**, concluiu-se que o extrato de berinjela *tratado*, nas concentrações *terapêuticas*, não apresentou interferência significativa nas determinações de ácido úrico e triglicerídeos, porém esta foi estatisticamente significativa para a determinação de glicose.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHERNE, S. A.; NORA, M. O. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, n. 18, p. 75-81, 2002.

ASANO, N.; KATO, A.; MATSUI, K.; WATSON, A. A.; NASH, R. J.; MOLYNEUX, R. J., HACKETT, L.; TOPPING, J.; WINCHESTER, B. The effects of calystegines isolated from edible fruits and vegetables on mammalian liver glycosidases. **Glycobiology**, v. 7, n. 8, p. 1085-1088, 1997.

AZUMA, K.; IPPOUSHI, K.; ITO, H.; HIGASHIO, H.; TERAU, J. Evaluation of antioxidative activity of vegetable extracts in linoleic acid emulsion and phospholipid bilayers. **J. Sci. Food Agric.**, v. 79, n. 14, p. 2010-2016, 1999.

BADRICK, T. C.; CAMPBELL, B. Effects of intravenous infusion of ascorbate on common clinical chemistry tests. **Clin. Chem.**, v. 38, n. 10., p. 2160, 1992.

BIOBRÁS. Bulas dos kits reagentes para bioquímica clínica. Disponível em: <<http://www.biobrasdiagnosticos.com.br/analises/bulas>> Acesso em: 30 jan. 2003.

BONINI, P.; PLEBANI, M.; CERIOTTI, F.; RUBBOLI, F. Errors in laboratory medicine. **Clin. Chem.**, v. 48, n. 5, p. 691-698, 2002.

CALBO, A. G. **EMBRAPA. Laboratório de Pós-colheita – Berinjela**. Disponível em: <<http://www.nph.embrapa.br/laborato/poscolheita/berinjela.htm>>. Acesso em: 31 jul. 2001.

CAMPBELL, M. K. Bioquímica. 3ª ed. São Paulo: Artemed, 2001, p. 428-431.

CAO, G.; MUCCITELLI, H. U.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PRIOR, R. L. Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, n. 5, p. 920-926, 2001.

CAO, G.; RUSSEL, R. M.; LISCHNER, N.; PRIOR, R. L. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. **J. Nutr.**, n. 128, p. 2383-2390, 1998.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, n. 11, p. 3426-3431, 1996.

CHANDRA, A.; RANA, J.; LI, Y. Separation, identification, quantification, and method validation of anthocyanins in botanical supplement raw materials by HPLC and HPLC-MS. **J. Agric. Food Chem.**, n. 49, p. 3515-3521, 2001.

CHEREM, A. R. Avaliação da casca da berinjela (*Solanum melongena* L.) sobre os níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol total e frações lipídicas, em cobaias (*Cavia porcellus*). 2002, 66 f. **Dissertação para obtenção do grau de mestre**. Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina.

CHIANG, H. C.; CHEN, Y. Y. Xantine oxidase inhibitors from the roots of eggplant (*Solanum melongena* L.). **J. Enzyme Inhib.**, v. 7, n. 3, p. 225-235, 1993.

CORREA, M. P. Berinjela. In: **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. I, 1926, p. 299-300.

DEUTCHES Arzneibuch. 10 ed. V. I. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1991.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Fundação editora da UNESP, 1995, p. 9-27 e 124-125.

EDENHARDER, R.; KURZ, P.; JONH, K.; BURGARD, S.; SEEGER, K. In vitro effect of vegetable and fruit juices on the mutagenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, 2-amino-3, 4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline. **Food Chem. Toxicol.**, v. 32, n. 5, p. 443-459, 1994.

ERLUND, I.; SILASTE, M. L.; ALFTHAN, G.; RANTALA, M.; KESÄNIEMI, Y. A.; ARO, A. Plasma concentration of the flavonoids hesperetin, narigenin and quercetin in human subjects following their habitual diets, and diets high or low in fruit and vegetables. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 9, p. 891-898, 2002.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3º ed. São Paulo: Andrei, 1977. p. 1015 e 1080

FCF/USP. Tabela brasileira de composição de alimentos. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela/tbcadadoin.php?tbcadado=tbcacoceda>> Acesso em: 27 nov. 2002.

FELDMAN, J. M. Histaminuria from histamine-rich foods. **Arch. Intern. Med.**, v. 143, n. 11, p. 2099-2102, 1983.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olinecultura- Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 2000, p. 242-244.

FLICK, G. J.; ANGELO, A. J.; ORY, R. L. KCN inhibition of lipoxygenase in purple, green, and white eggplants. **Lipids**, v. 10, n. 9, p. 564-566, 1975.



FLICK, G. J.; BURNETTE, F. S.; AUNG, L. H.; ORY, R. L.; ANGELO, A. J. Chemical composition and biochemical properties of mirlitons (*Sechium edule*) and purple, green, and white eggplants (*Solanum melongena*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, n. 5, p. 1000-1005, 1978.

FLUCK, R. A.; JAFFE, M. J. Cholinesterases from plant tissues. VI. Preliminary characterization of enzymes from *Solanum melongena* L. and *Zea mays* L. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 410, n.1, p. 130-134, 1975.

FREEMANTLE, J.; FREEMANTLE, M. J.; BADRICK, T. Ascorbate interference in common clinical assays performed on three analyzers. **Clin. Chem.**, v. 40, n. 6., p. 950-951, 1994.

GALTEAU, M. M.; SIEST, G. Drugs effects in clinical chemistry. Part 2, Guidelines for evaluation of analytical interference. IFCC: Document Stage 1, draft 4. **Ann. Biol. Clin.**, n. 42, p. 137-144, 1984.

GASCON, N.; OTAL, C. MARTINEZ-BRU, C.; MERCE, J.; CORTES, M.; ARCELUS, R.; QUERALTO, J.M.; SÁNCHEZ, J. M.; GONZALEZ-SASTRE, F. Dipyrone interference on several common biochemical tests. *Clin. Chem.*, v. 36, n. 6, p. 1033-1036, 1993.

GIL-IZQUIERDO, A.; GIL, M. I.; FERRERES, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. **J. Agric. Food Chem.**, n. 49, p. 1035-1041, 2001.

GUIMARÃES, J. C. Diretrizes para avaliação de interferência analítica. **INFARMA**, p. 10-13, maio/junho, 1993.

GUIMARÃES, P. R.; GALVÃO, A. M. P.; BATISTA, C. M.; AZEVEDO, G. S.; OLIVEIRA, R.D.; LAMOUNIER, R. P.; FREIRE, N.; BARROS, A. M. D.; SAKURAI, E.; OLIVEIRA, J. P., VIEIRA, E. C.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 9, p. 1027-1036, 2000.

HANSTEN, P. D. **Associação de medicamentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1985, p. 239 e 289.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis**. 2<sup>th</sup> ed. London: Chapman and Hall, 1984, p. 55-68.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomed. Pharmacother**, n. 51, p. 305-310, 1997.

HOLLMAN, P. C. H.; van der GAAG, M. S.; MENGELERS, M. J. B.; van TRIJP, J. M. P.; de VRIES, J. H.; KATAN, M.B. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. **Free Radic. Biol. Med.**, n. 21, p. 703-707, 1996.

HOLLMAN, P. C. H.; van TRIJP, J. M. P.; BUYSMAN, M. N. C. P.; van der GAAG, M. S.; MENGELERS, M. J. B.; de VRIES, J. H.; KATAN, M.B. Relative Bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. **FEBS Lett.**, n. 418, p. 152-156, 1997.

HOLME, D. J.; PECK, H. **Analytical Biochemistry**. 2<sup>th</sup>. New York: Logman Scientific Technical, 1993, p. 347.

IBUKI, F.; KOTARU, M.; KATSURADA, A.; ASAO, T.; TASHIRO, M.; KANAMORI, M. The position of the reactive site peptide bond in eggplant trypsin inhibitor molecule. **J. Nutri. Sci. Vitaminol.**, v. 26, n. 2, p. 119-126, 1980.

IBUKI, F.; YAMADA, M.; TASHIRO, M.; KANAMORI, M. An improved method for the purification of eggplant trypsin inhibitor. **J. Nutri. Sci. Vitaminol.**, v. 23, n. 2, p. 133-143, 1977.

IGARASHI, K.; YOSHIDA, T.; SUZUKI, E. Antioxidative activities of nasunin, isolated from Chouja-nasu (little eggplant, *Solanum melongena* Chouja), and some other anthocyanins were studied by measuring their inhibitory effect on carotene oxidn. induced by the linoleic acid-lipoxygenase system (carotene bleaching method) and on autoxidn. of linoleic acid. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 40, p. 138-143, 1993. Abstract. In: Chemical Abstracts, CD ROM.

JELIC'-IVANOVIC', Z.; MAJKIC'-SINGH, N.; SPASIC', S.; TODOROVIC', P.; ZIVANOV-STAKIC', D. Interference by analgesic and antirheumatic drugs in 25 common laboratory assays. **J. Clin. Chem. Biochem.**, v. 23, p. 287-292, 1985.

JORGE, P. A.; NEYRA, L. C.; OSAKI, R. M.; ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N. Effect of eggplant on plasma lipid levels, lipidic peroxidation and reversion of endothelial dysfunction in experimental hypercholesterolemia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 70, n. 2, p. 87-91, 1998.

KAGA, A. Influence of food browning on nutrition. III. Effect of brown substances on digestive enzyme activity. **Hokkaido Igaku Zasshi**, v. 54, n. 6, p. 635-643, 1979. Abstract. In: Chemical Abstracts, CD ROM.

KAKUDA, C. M.; AOKI, L.; FERRARI, M. A.; LOTIERZO, P. H.; CARAMELLI, B. Influence of an eggplant and orange juice on lipids and fibrinogen. **Posters Nutricion/diet (and bioactive components of food)**, n.143, 1997.

KANAMORI, M.; IBUKI, F.; YAMADA, M.; TASHIRO, M.; MIYOSHI, M. Purification and partial characterization of a protein proteinase inhibitor isolated from eggplant exocarp. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 439, n. 2, p. 398-405, 1976.

KANAMORI, M.; IBUKI, F.; YAMADA, M.; TASHIRO, M.; MIYOSHI, M. Several properties of the partially purified proteinase inhibitor in eggplant exocarp. **J. Nutri. Sci. Vitaminol.**, v. 21, n. 6, p. 429-436, 1975.

KANEYUKI, T.; NODA, Y.; TRABER, M. G.; MORI, A.; PACKER, L. Superoxide anion and hydroxyl radical scavenging activities of vegetables extracts measured

using electron spin resonance. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 47, n. 6, p. 979-989, 1999.

KAYAMORI, F.; IGARASHI, K. Effects of dietary nasunin on the serum cholesterol level in rats. **Biosci. Biotech. Biochem.**, v. 58, n. 3, p. 570-571, 1994.

KEELER, R. F.; BACKER, D. C.; GAFFIELD, W. Spirosolane-containing *Solanum* species and induction of congenital craniofacial malformations. **Toxicol.**, v. 28, n. 8, p. 873-884, 1990.

KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S.A.; STORY, J. A. Influence of an eggplant (*Solanum melongena*) preparation on cholesterol metabolism in rats. **Exp. Pathol.**, v. 10, n. 3/4, p. 180-183, 1975.

KÜHNAU, J. The flavonoids, a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. **World Rev. Nutr. Diet**, n. 24, p. 117, 1976.

KURODA, C.; WADA, M. The colouring matter of eggplant (*Nasu*). **Proc. Imp. Acad.**, v. 9, p. 51-52, 1933.

LABTEST. **Instrução para o uso dos produtos LABTEST**. Disponível em: [http://www.labtest.com.br/interna\\_instrucoes\\_uso\\_abc.asp](http://www.labtest.com.br/interna_instrucoes_uso_abc.asp) Acesso em: 15 jun. 2003.

LABTEST. **Laboratório Clínico: usando controles no laboratório clínico**. 3ª ed. Lagoa Santa: LABTEST diagnóstica, n. 13, 1998, p. 12, 28-31 e 53.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; NOGUEIRA, T. C. M. L. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003, p. 247-261.

LEE, Y. M.; JEONG, H. J.; NA, H. J.; KU, J. Y.; KIM, D. K. Inhibition of immunologic and nonimmunologic stimulation-mediated anaphylactic reactions by water extracts of white eggplant (*Solanum melongena*). **Pharmacol. Res.** v. 43, n. 4, p. 405-409, 2001.

LETELLIER, G.; DESJARLAIS, F. Analytical interference of drugs in clinical chemistry: study of twenty drugs on seven different instruments. **Clin. Biochem.**, v. 18, p. 345-351, 1985.

LIN, C.; CHEN, C.; CHEN, C.; LIANG, Y.; LIN, J. Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. **BBRC**, n. 294, p. 167-172, 2002.

LOPES-NICOLAS, J. M.; PEREZ-GILABERT, M.; GARCIA-CARMONA, F. Characterization and effect of physicochemical properties of linoleic acid on the enzymatic activity. **Agric. Food Chem.**, v. 49, n. 1, p. 433-438, 2001.

MAGUIRE, G. A., PRICE, C. P. Evidence for interference by ascorbate in the measurement of cerebrospinal fluid glucose by a kinetic glucose oxidase/peroxidase procedure. **Clin. Chem.**, v. 29, n. 10, p. 1810-1812, 1983.

MARSHALL, W. J. **Clinical chemistry**. 3<sup>th</sup> ed. London: Mosby, 1995, p. 1-3.

MILBURY, P. E.; CAO, G.; PRIOR, R. L.; BLUMBERG, J. Bioavailability of elderberry anthocyanins. **Mechanisms of Ageing and Development**, n. 123, p. 997-1006, 2002.

MITSCHEK, G. H. A. L'action de *Solanum melongena* en pathologie expérimentale. **Quarterly Journal of Crude Drug Research**. n. 10, p. 1550-1555, 1970.

MIYAZAWA, T.; NAKAGAWA, K.; KUDO, M.; MURASHI, K.; SOMEYA, K. Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. **J. Agric. Food Chem.**, n. 47, p. 1083-1091, 1999.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: Princípios e interpretação**. 4<sup>a</sup> ed. Caxias do Sul: Ed Médica Missau, 2003, p. 70, 118, 139, 143 e 275.

NAGASE, H.; SASAKI, K.; KITO, H.; HAGA, A.; SATO, T. Inhibitory effect of delphinidin from *Solanum melongena* on human fibrosarcoma HT-1080 invasiveness in vitro. **Planta Medica**, v. 64, n. 3, p. 216-219, 1998.

NAKAYAMA, T.; TAKEURA, Y.; UEDA, T. Visible spectrophotometric assay, purification, and molecular properties of a lipoxygenase from eggplant (*Solanum melongena* Linné) fruits. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 214, n. 3, p. 1067-1072, 1995.

NETZEL, M.; STRASS, G.; JANSSEN, M.; BITSCH, I.; BITSCH, R. Bioactive anthocyanins detected in human urine after ingestion of blackcurrant juice. **J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.**, v. 20, n. 2, p. 89-95, 2001.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A. PHILLIPSON, D. Herbal medicines: **A guide for health-care professionals**. London: Pharmaceutical Press, 1996, p. 3.

NIELSEN, S. E.; FREESE, R.; KLEEMOLA, P.; MUTANEN, M. Flavonoids in human urine as biomarkers for intake of fruits and vegetables. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 11, p. 459-466, 2002.

NODA, Y.; KNEYUKI, T.; IGARASHI, K.; MORI, A. PACKER, L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. **Toxicology**, v. 148, p. 119-123, 2000.

NOROOZI, M.; ANGERSON, W. J.; LEAN, M. E. J. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. **Am. J. Clin. Nutr.**, n. 67, p. 1210-1218, 1998.

PACZKOWSKI, C.; KALINOWSKA, M.; WOJCIECHOWSKI, Z. A. UDP-glucose: solasodine glucosyltransferase from eggplant (*Solanum melongena* L.) leaves: partial purification and characterization. **Acta Biochim. Pol.**, v. 44, n. 1, p. 43-53, 1997.

PEDRAZZI, A. H. P.; RODRIGUES, E. R.; ZANARDO FILHO, A. Ação redutora da vitamina C em bioquímica clínica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 30, n. 1, p. 5-6, 1998.

PEREZ-GILABERT, M.; LOPEZ-NICOLAS J. M.; GARCIA-CARMONA, F. Purification of a novel lipoxygenase from eggplant (*Solanum melongena*) fruit chloroplasts. **Physiol. Plant.**, v. 111, n. 3, p. 276-282, 2001.

PESCE, M. A.; BODOURIAN, S. H. Interference with the enzymic measurement of cholesterol in serum by use of five reagent kits. **Clin. Chem.**, v. 24, n. 4, p. 757-760, 1977.

PINCUS, M. R.; ZIMMERMAN, H. J.; HENRY, J. B. Clinical Enzymology. In: HENRY, J. B. (Org.). **Clinical diagnosis and management by laboratory methods**. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996, p. 268-276.

RAVEL, R. **Laboratório Clínico: Aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, p. 1-7.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiocotecnologia**. Editorial Premier, 1997, p. 157.

RODRIGUES, E. R.; PEDRAZZI, A. H. P.; FRANCO, J. J.; ZANARDO FILHO, A. Ação interferente do ácido ascórbico no doseamento da glicose sérica e urinária e do ácido úrico sérico, "in vitro". **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 29, n. 4, p. 220-222, 1997.

ROSS, J. A.; KASUN, C. M. Dietary flavonoids: metabolic effects, and safety. **Annu. Rev. Nutr.**, n. 22, p. 19-34, 2002.

SAKAMURA, S.; WATANABE, S.; OBATA, Y. The structure of the major anthocyanin in eggplant. **Agric. Biol. Chem.**, v. 27, p. 663-665, 1963.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **J. Nutr.**, n. 130, p. 2073-2085, 2000.

SCHENKEL<sup>1</sup>, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003, p. 371-377.

SCHENKEL<sup>2</sup>, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003, p. 711-724.

SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **J. Agric. Food Chem.**, n. 50, p. 5308-5312, 2002.

SHARMA, R. C.; ALI, R. Isolation and characterization of catechol oxidase from *Solanum melongena*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1597-1600, 1980.

SHARP, P. Interference in glucose oxidase-peroxidase blood glucose methods. **Clin. Chem.**, v. 40, p. 115-120, 1972.

SHATTA, A.; EL-SHAMEI, Z. Differentiation of eggplant (*Solanum melongena*) polyphenol oxidase, laccase and preoxidase using selective substrates and inhibitors. **Adv. Food Sci.**, v. 21, n. 3/4, p. 79-83, 1999.

SIEST, G.; DAWKINGS, S. J.; GALTEAU, M. M. Drug effects on clinical laboratory tests. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 1, n. 3, p. 1983.

SILVA, E.; SCHARF, E. R.; MARTINELLO, F.; LUCA, D. M.; AMORIN, G. R.; CORRADI, L.; MARTINS, T. R. Efeito interferente do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 31, n. 3, p. 111-115, 1999.

SILVA, M. E. **Efeito do chá de berinjela sobre o metabolismo de lipídeos em ratos.** Disponível em:<<http://enut.ufop.br/nutline/anteriores/artigo01.htm>> Acesso em: 22 nov. 2002.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul.** 4ª ed. Porto Alegre, Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, p. 9-15.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, n. 16, p. 144-158, 1965.

SMITH, G.; THOMSEN, S. J.; MARKHAN, K. R.; ANDARY, C.; CARDON, D. The photostabilities of naturally occurring 5-hydroxyflavones, flavonols, their glycosides and their aluminium complexes. **J. Photochem. Photobiol. A.**, n. 136, p. 87, 2000.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P. R., BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003, p. 302-303.

SONNTAG, O.; SCHOLER, A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. **Ann. Clin. Biochem.**, n. 38, p. 376-385, 2001.

SREDNI, D.; GROSSMAN, S. Hydroperoxy isomers and ketohydroxy product from oxidation of linoleic acid by eggplant lipoxygenase. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1335-1337, 1980.

SUDHEESH, S.; PRESANNAKUMAR, G.; VIJAYAKUMAR, S.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Hypolipidemic effect of flavonoids from *Solanum melongena*. **Plant Foods for Human Nutrition**, n. 51, p. 321-330, 1997.

SUDHEESH, S.; SANDHYA, C.; KOSHY, A. S.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant activity of flavonoids from *Solanum melongena*. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 5, p. 393-396, 1999.

TAPIERO, H.; TEW, K. D.; NGUYEN BA, G.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomed. Pharmacother**, n. 56, p. 200-207, 2002.

TASTALDI, H. **Práticas de bioquímica**. 3ª ed. São Paulo: Editora da USP, p. 46, 1971.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem.**, v. 6, p. 24-27, 1969.

WALLACH, J. **Interpretation of diagnostic tests**. 6<sup>th</sup> ed. Boston: Little, Brown and Company, [1995], p. 5 e 867.

WHITE-STEVENS, R. H.; STOVER, L. R.; Interference by ascorbic acid in test systems involving peroxidase. II. Redox-coupled indicator systems. **Clin. Chem.**, v. 28, n. 4, p. 589-595, 1982.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant material**. Geneva, p. 46, 1998.

WRIGHT, A. L.; FOSTER, M. G. Effect of some commonly prescribed drugs on certain chemistry tests. **Clin. Biochem.**, n. 6, p. 249-252, 1980.

YAMADA, M.; TASHIRO, M.; YAMAGUCHI, H.; YAMADA, H.; IBUKI, F. The reactive site of eggplant trypsin inhibitor. **J. Biochem.**, v. 80, n. 6, p. 1293-1297, 1976.

YAMAZAKI, M.; NISHIMURA, T. Induction of neutrophil accumulation by vegetable juice. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 56, n. 1, p. 150-151, 1992.

YOSHIKAWA, K.; INAGAKI, K.; TERASHITA, T.; SHISHIYAMA, J.; KUO, S.; SHANKEL, D. M. Antimutagenic activity of extracts from Japanese eggplant. **Mutat. Res.**, v. 371, n. 1/2, p. 65-71, 1996.

YOUNG, D. S.; PESTANER, L. C.; GIBBERMAN, V. Effects of drugs on clinical laboratory tests. **Clin. Chem.**, v. 21, n. 5, 1D-432 D, 1975.

YOUNG, D. S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 4<sup>th</sup> ed. Washington: AACC, 1995.

YOUNG, D. S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5<sup>th</sup> ed. Washington: AACC, 2000.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003, p. 577-614.



## 10. ANEXOS

**QUADRO 5:** Esquema das reações químicas utilizadas para a determinação de colesterol total, glicose, ácido úrico, triglicerídeos e aspartato-aminotransferase (Segundo metodologia BIOBRÁS, 2003).

<b>COLESTEROL TOTAL</b>		
Ésteres de colesterol + H <sub>2</sub> O	Colesterol esterase	Colesterol + ácidos graxos livres
Colesterol + O <sub>2</sub>	Colesterol oxidase	Colest-4-en-3-ona + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
2 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 4-Aminofenazona + Fenol	Peroxidase	quinonimina + 4 H <sub>2</sub> O
<b>GLICOSE</b>		
Glicose + O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	Glicose-oxidase	Ácido Glucônico + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
2 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 4-aminofenazona + Fenol	Peroxidase	quinonimina + 4 H <sub>2</sub> O
<b>ACIDO ÚRICO</b>		
Ácido úrico + O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	Uricase	Alantoína + CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
2 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 4-Aminofenazona + DHBS <sup>1</sup>	Peroxidase	quinonimina + HCl + 4 H <sub>2</sub> O
<b>TRIGLICERÍDEOS</b>		
Triglicerídeos	Lipase	Glicerol + ácidos graxos livres
Glicerol + ATP	Glicerolquinase	Glicerol-3-fosfato + ADP
Glicerol-3-fosfato + O <sub>2</sub>	Glicerol-3-fosfato oxidase	Dihidroxiacetona-fosfato + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
2 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 4-Aminoantipirina + 4-clorofenol	Peroxidase	quinonimina + 4 H <sub>2</sub> O + HCl
<b>ASPARTATO AMINOTRANSFERASE</b>		
2-oxoglutarato + L-aspartato	Aspartato aminotransferase	L-Glutamato + Oxalacetato
Oxalacetato + NADH + H <sup>+</sup>	Malato desidrogenase	L-Malato + NAD <sup>+</sup>

<sup>1</sup> DHBS: ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfônico.

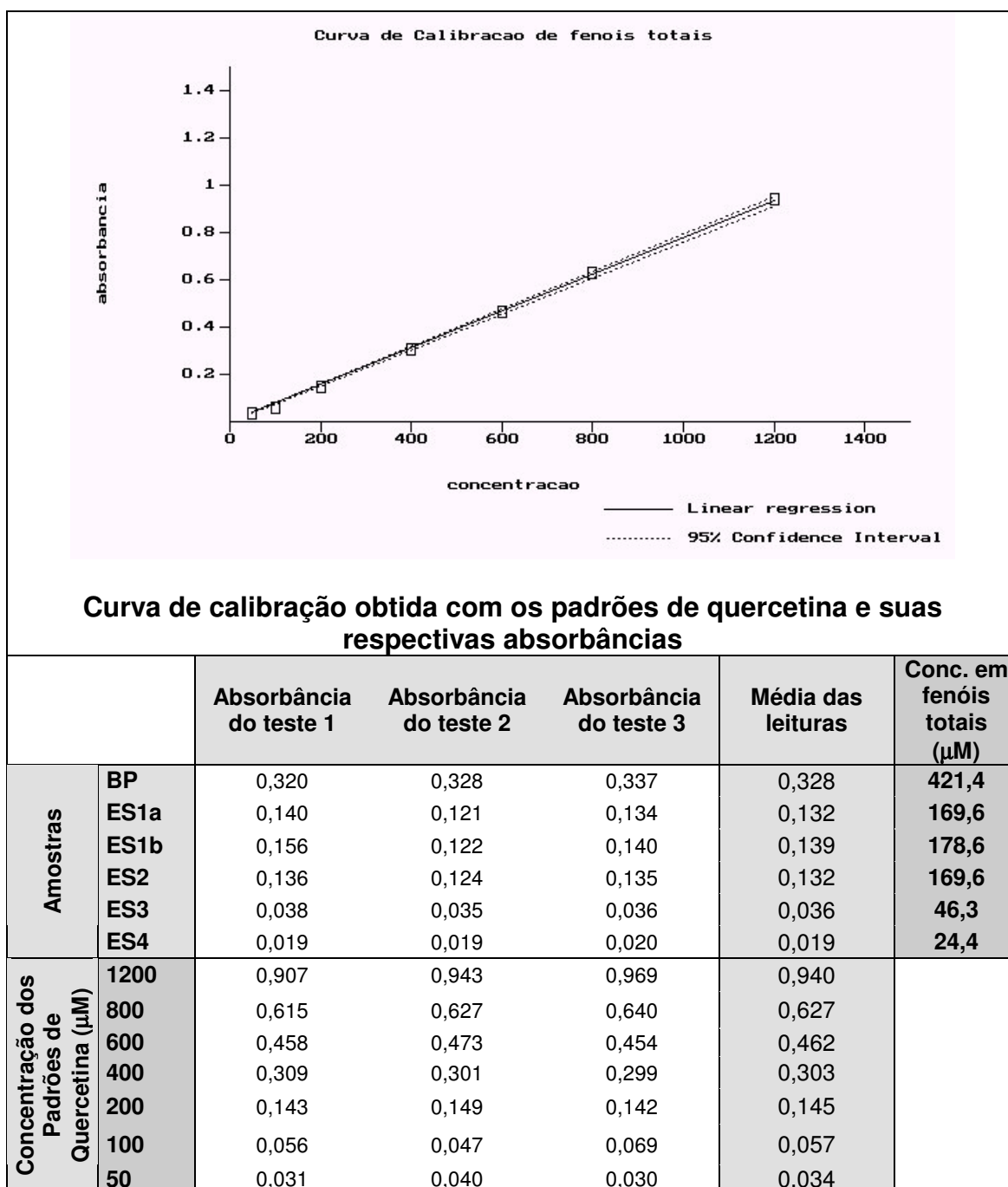
**TABELA 1.** Resultados do teste de determinação da quantidade de resíduo insolúvel em relação ao extrato solúvel em solvente água/metanol 1:1.

		Peso do papel	Peso do papel + resíduo	Peso do resíduo	Peso extrato solúvel	% de resíduo insolúvel	% de extrato solúvel
ES1a	1º amostra	1,1813	2,0600	0,8787	0,1213	<b>87,9</b>	<b>12,1</b>
	2º amostra	1,1761	2,0562	0,8801	0,1199	<b>88,0</b>	<b>12,0</b>
	3º amostra	1,2029	2,0630	0,8601	0,1399	<b>86,0</b>	<b>14,0</b>
	<b>Média</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>0,8730</b>	<b>0,1270</b>	<b>87,3</b>	<b>12,7</b>
ES1b	1º amostra	1,3742	2,2730	0,8988	0,1012	<b>89,9</b>	<b>10,1</b>
	2º amostra	1,3066	2,1783	0,8717	0,1283	<b>87,2</b>	<b>12,8</b>
	3º amostra	1,3292	2,2243	0,8951	0,1049	<b>89,5</b>	<b>10,5</b>
	<b>Média</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>0,8885</b>	<b>0,1115</b>	<b>88,8</b>	<b>11,2</b>
ES2	1º amostra	1,3655	2,1831	0,8176	0,1824	<b>81,8</b>	<b>18,2</b>
	2º amostra	1,5698	2,4168	0,8470	0,1530	<b>84,7</b>	<b>15,3</b>
	3º amostra	1,5065	2,3293	0,8228	0,1772	<b>82,3</b>	<b>17,7</b>
	<b>Média</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>0,8291</b>	<b>0,1709</b>	<b>82,9</b>	<b>17,1</b>
ES3	1º amostra	1,2709	2,1973	0,9264	0,0736	<b>92,6</b>	<b>7,4</b>
	2º amostra	1,1776	2,1999	0,9223	0,0777	<b>92,2</b>	<b>7,8</b>
	3º amostra	1,1977	2,1273	0,9296	0,0704	<b>93,0</b>	<b>7,0</b>
	<b>Média</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>0,9261</b>	<b>0,0739</b>	<b>92,6</b>	<b>7,4</b>
ES4	1º amostra	1,2788	2,1598	0,8810	0,1190	<b>88,1</b>	<b>11,9</b>
	2º amostra	1,5276	2,4290	0,9014	0,0986	<b>90,1</b>	<b>9,9</b>
	3º amostra	1,4584	2,3814	0,9230	0,0770	<b>92,3</b>	<b>7,7</b>
	<b>Média</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>0,9018</b>	<b>0,0982</b>	<b>90,1</b>	<b>9,9</b>

**TABELA 2.** Índices de Espuma obtidos com diferentes amostras comerciais de berinjela.

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7	Tubo 8	Tubo 9	Tubo 10	Somatório do IE dos 10 tubos
<b>BP</b>	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	10	10	<b>20</b>
<b>ES1a</b>	20	20	30	40	40	50	60	60	70	70	<b>460</b>
<b>ES1b</b>	10	20	25	40	40	50	60	60	60	70	<b>435</b>
<b>ES2</b>	10	20	20	25	45	50	55	60	70	80	<b>435</b>
<b>ES3</b>	10	10	10	10	10	15	20	20	20	30	<b>155</b>
<b>ES4</b>	zero	5	15	20	25	30	30	30	35	35	<b>225</b>

**QUADRO 6:** Curva de calibração de fenóis totais, leituras de absorvância das amostras e padrões e resultados obtidos em  $\mu\text{M}$  de polifenóis com cada uma das amostras no teste para determinação de fenóis totais.



**QUADRO 7:** Resultados obtidos na primeira etapa dos testes de Interferência *in vitro*. Concentração supraterapêutica do extrato seco sem prévio tratamento.

Cubetas		Amostras/Analitos								Média Final
		A	B	C	D	E	F	G	H	
Soro Puro (SP1)	Glicose	292	291	295	294	294	298	289	298	<b>293,6</b>
		293	298	294	299	295	289	293	296	
		289	295	291	293	296	290	287	297	
	Colesterol	243	246	247	249	247	248	237	245	<b>247,4</b>
		240	288	251	234	234	242	254	251	
		242	265	249	242	252	249	246	236	
Ácido úrico	12,7	13,0	12,7	12,9	12,9	12,8	12,6	13,0	<b>12,9</b>	
	13,5	13,0	12,5	12,4	13,0	13,0	12,8	12,8		
	12,8	13,0	12,8	12,8	13,0	12,9	12,7	12,8		
Triglicerídeo	267	271	274	271	272	272	264	273	<b>271,2</b>	
	268	273	270	269	268	276	270	274		
	272	278	268	275	275	273	269	267		
AST	123	124	125	123	125	128	125	127	<b>124,9</b>	
	124	124	125	123	126	126	126	127		
	124	124	125	124	124	125	124	127		
Soro c/ EtOH/Quercetina (SQ <sub>st</sub> )	Glicose	285	283	282	284	281	281	289	285	<b>282,9</b>
		288	275	280	289	280	283	280	276	
		283	284	289	282	282	280	287	284	
	Colesterol	243	246	247	249	247	248	237	245	<b>238,6</b>
		240	288	251	234	234	242	254	251	
		242	265	249	242	252	249	246	236	
Ácido úrico	12,4	12,4	12,4	12,5	12,4	12,4	12,4	12,7	<b>12,5</b>	
	12,8	12,4	12,3	12,7	12,4	12,2	12,4	12,4		
	12,7	12,5	12,4	12,5	12,4	12,5	12,3	12,6		
Triglicerídeo	260	260	261	259	261	261	265	265	<b>260,8</b>	
	258	258	259	263	261	258	267	267		
	252	258	260	249	259	262	267	267		
AST	124	123	125	125	15	124	125	128	<b>124,5</b>	
	123	123	124	123	126	124	124	127		
	121	123	125	124	126	124	124	127		
Soro c/ Extrato Seco (SE <sub>st</sub> )	Glicose	319	323	322	326	320	319	317	315	<b>319,3</b>
		321	315	318	313	325	318	315	320	
		322	324	317	320	319	315	322	322	
	Colesterol	244	250	250	249	247	250	254	243	<b>251,8</b>
		297	251	254	246	251	255	248	250	
		248	250	252	248	250	253	249	255	
Ácido úrico	12,8	12,8	13,0	13,0	12,9	12,9	12,9	12,6	<b>13,0</b>	
	13,6	12,9	13,2	12,9	13,3	13,2	13,1	13,0		
	12,9	13,1	13,0	12,8	13,2	12,9	12,8	12,8		
Triglicerídeo	12,8	12,8	13,0	13,0	12,9	12,9	12,9	12,6	<b>279,1</b>	
	13,6	12,9	13,2	12,9	13,3	13,2	13,1	13,0		
	12,9	13,1	13,0	12,8	13,2	12,9	12,8	12,8		
AST	133	134	138	137	137	139	139	136	<b>136,3</b>	
	133	134	139	136	138	139	138	136		
	132	134	138	135	136	137	138	136		
Soro c/ Amido (SA <sub>st</sub> )	Glicose	311	307	315	314	312	314	313	311	<b>310,9</b>
		312	308	319	304	297	312	310	313	
		310	309	315	306	313	318	314	306	
	Colesterol	247	248	250	249	245	247	245	248	<b>251,9</b>
		253	251	255	260	303	251	241	252	
		250	248	253	260	250	249	242	250	
Ácido úrico	13,1	13,1	13,1	13,1	12,9	13,2	13,1	12,9	<b>13,1</b>	
	13,3	13,1	13,4	13,3	12,9	13,4	12,9	13,2		
	13,2	13,1	13,3	13,1	12,9	13,1	13,2	12,9		
Triglicerídeo	278	280	285	279	276	278	278	280	<b>279,2</b>	
	280	283	286	278	276	281	279	273		
	283	281	282	283	276	282	276	269		
AST	138	136	140	137	136	136	137	136	<b>136,7</b>	
	137	137	139	137	135	135	133	139		
	138	137	140	137	133	135	138	135		
Soro c/ EtOH/Salina – Controle Quercetina (CQ <sub>st</sub> )	Glicose	276	258	257	257	283	270	276	274	<b>270,5</b>
		268	272	272	280	273	271	269	272	
		260	258	276	274	282	268	274	273	
	Colesterol	233	248	243	246	282	226	233	238	<b>242,5</b>
		235	245	250	244	250	232	232	244	
		238	234	249	243	247	240	239	250	
Ácido úrico	12,2	12,0	12,1	12,2	12,0	12,4	12,1	12,1	<b>12,2</b>	
	12,3	12,1	12,0	12,4	12,0	12,2	12,0	12,3		
	12,1	12,3	12,2	12,3	12,3	12,4	12,2	12,1		
Triglicerídeo	257	259	258	262	268	253	258	262	<b>260,2</b>	
	260	259	257	263	255	263	258	263		
	262	258	263	268	260	259	260	260		
AST	124	122	122	120	127	125	120	122	<b>122,8</b>	
	123	124	123	120	120	125	121	123		
	122	122	124	125	124	122	123	124		

**QUADRO 8:** Resultados obtidos na segunda etapa dos testes de Interferência *in vitro*. Concentração supratrapêutica com extrato seco tratado.

Cubetas		A	B	C	D	E	F	G	H	Média Final
Amostras/Analitos										
<b>Soro Puro (SP2)</b>	<b>Glicose</b>	215	212	216	215	214	218	212	219	<b>213,9</b>
		212	218	218	217	211	205	216	216	
		213	209	216	215	211	211	209	215	
	<b>Colesterol</b>	181	182	182	181	179	178	180	180	<b>181,9</b>
		181	182	182	183	181	182	184	186	
		181	187	189	178	183	182	179	182	
	<b>Ácido úrico</b>	8,5	8,4	8,6	11,1	8,4	8,6	8,7	8,7	<b>8,9</b>
		8,4	12,6	8,6	8,6	8,7	8,5	8,7	8,7	
		8,5	8,5	8,6	8,5	8,6	8,7	8,6	8,7	
	<b>Triglicerídeo</b>	191	186	190	188	186	191	192	195	<b>193,4</b>
		199	192	198	194	195	184	184	204	
		196	190	202	196	200	191	188	210	
	<b>AST</b>	115	121	120	120	121	119	122	119	<b>119,3</b>
		120	120	120	122	118	123	120	112	
		114	123	119	122	119	118	118	117	
<b>Soro c/ Extrato Seco Tratado (SET<sub>st</sub>)</b>	<b>Glicose</b>	237	238	241	242	241	245	245	248	<b>237,3</b>
		233	229	232	238	236	239	237	237	
		234	230	230	237	234	239	237	236	
	<b>Colesterol</b>	181	174	178	184	184	182	181	183	<b>178,8</b>
		175	174	174	180	181	181	179	181	
		175	172	175	179	181	180	178	180	
	<b>Ácido úrico</b>	8,2	7,7	8,1	8,3	8,2	8,4	8,3	8,4	<b>8,2</b>
		8,3	8,0	7,9	8,0	8,3	8,3	8,4	8,4	
		8,4	8,0	8,0	8,1	8,2	8,3	8,3	8,3	
	<b>Triglicerídeo</b>	219	192	194	201	196	200	197	206	<b>201,0</b>
		200	195	198	197	209	205	208	205	
		199	202	198	200	193	201	204	206	
	<b>AST</b>	118	126	122	124	121	120	120	121	<b>120,4</b>
		119	123	122	113	119	120	121	120	
		119	120	119	123	117	120	123	120	

**QUADRO 9:** Resultados obtidos na terceira etapa dos testes de Interferência *in vitro*. Concentração terapêutica com extrato seco sem prévio tratamento.

Cubetas		A	B	C	D	E	F	G	H	Média Final
Amostras/Analito										
Soro Puro (SP2)	Glicose	215	212	216	215	214	218	212	219	213,9
		212	218	218	217	211	205	216	216	
		213	209	216	215	211	211	209	215	
Soro c/ EtOH/Quercetina (SQ <sub>i</sub> )	Glicose	215	213	210	216	221	217	219	218	214,8
		217	213	212	213	215	214	215	216	
		213	213	214	215	208	213	216	220	
Soro c/ Extrato Seco (SE <sub>i</sub> )	Glicose	217	217	224	221	224	220	218	222	220,9
		221	220	222	220	218	221	222	226	
		219	218	228	217	225	221	219	222	
Soro c/ Amido (SA <sub>i</sub> )	Glicose	226	223	222	220	221	224	218	221	221,9
		224	224	225	220	220	216	221	215	
		226	221	222	222	221	227	221	217	
Soro c/ EtOH/Salina – Controle Quercetina (CQ <sub>i</sub> )	Glicose	217	216	221	222	217	219	217	215	217,1
		217	217	219	220	212	220	218	209	
		220	214	217	219	225	214	214	211	

**QUADRO 10:** Resultados obtidos na quarta etapa dos testes de Interferência *in vitro*. Concentração terapêutica com extrato seco tratado.

Cubetas		A	B	C	D	E	F	G	H	Média Final
Amostras/Analito										
Soro Puro (SP3)	Glicose	205	198	196	204	200	203	200	197	203,8
		207	205	204	199	203	203	209	209	
		208	206	204	204	210	208	205	205	
	Ácido úrico	12,2	12,5	12,1	12,2	12,1	12,7	11,7	12,1	12,2
		12,4	11,8	12,4	12,5	12,3	12,4	12,3	11,9	
		11,9	11,9	12,2	12,2	12,2	12,2	11,8	12,0	
Triglicerídeo	166	166	173	171	168	171	168	169	168,0	
	169	167	171	168	168	170	167	165		
	167	166	165	167	169	167	169	166		
Soro c/ Extrato Seco Tratado (SET <sub>i</sub> )	Glicose	206	203	201	205	200	197	201	203	206,3
		207	211	204	207	212	211	205	205	
		211	207	210	210	207	209	208	211	
	Ácido úrico	12,9	12,5	11,8	13,0	12,5	12,5	12,6	10,7	12,3
		12,0	12,1	12,2	11,8	12,4	12,3	12,5	12,2	
		12,4	12,3	12,5	12,6	12,5	11,8	12,4	12,2	
Triglicerídeo	168	165	174	168	170	171	170	170	169,1	
	174	166	169	169	169	164	173	170		
	166	168	170	165	166	166	172	175		